

**Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum**

Bartosz Rajs

Możliwości i ograniczenia badań przesiewowych w późnym pierwszym trymestrze ciąży w kierunku trisomii 13.

Capabilities and limitations of late first-trimester screening for Trisomy 13.

Praca doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Marcin Wiecheć

Pracę wykonano w Katedrze Ginekologii i Położnictwa UJ CM w Krakowie
Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Kazimierz Pityński

Kraków, 2020

Podziękowania

Składam najserdeczniejsze wyrazy wdzięczności mojemu promotorowi dr hab. n. med. Marcinowi Wiecheciowi za opiekę naukową, życzliwość i poświęcony czas, bez których ta praca nie mogłaby powstać.

Serdeczne podziękowania kieruję również do mojej Żony i Synka, za cierpliwość i wsparcie w trudnych chwilach, oraz do Rodziców, za wiarę we mnie i w powodzenie moich planów.

Spis treści:

Spis skrótów	4
Wprowadzenie	6
Trisomia 13	6
Program badań prenatalnych w Polsce	12
Test złożony	13
Testy diagnostyczne w ciąży	13
Wieloparametrowy protokół USG	14
Przezierność karkowa	14
Częstość rytmu serca płodu.	15
Markery drugorzędowe	16
Cele badań	18
Cele szczegółowe	18
Publikacje składające się na dysertację	19
Podsumowanie metodologii badań składających się na dysertację	20
Sprzęt medyczny	21
Analiza statystyczna	21
Podsumowanie wyników przeprowadzonych badań	22
Wnioski	27
Streszczenie w języku polskim	28
Streszczenie w języku angielskim	32
Bibliografia	36
Spis Tabel	39
Spis Rycin	39
Załączniki	41

Spis skrótów

3VTV	three-vessel and trachea view	projekcja trzech naczyń z tchawicą
4CV	four-chamber view	projekcja czterojamowa
AVSD	atrio-ventricular septal defect	wspólny kanał przedsionkowo-komorowy
CDH	congenital diaphragmatic hernia	wrodzona przepuklina przeponowa
CRL	crown-rump length	długość głowowo-siedzeniowa
CSN	-	centralny system nerwowy
CST	combined screening test	test złożony
DR	detection rate	współczynnik wykrywalności = czułość
DV	ductus venosus	przewód żylny
EUROCAT	European surveillance of congenital anomalies	Europejski rejestr wad wrodzonych
FMF	Fetal Medicine Foundation	Fundacja Medycyny Płodowej
FPR	false positive rate	współczynnik wyników fałszywie dodatnich
FHR	fetal heart rate	częstość rytmu serca
HPE	holoprosencephaly	holoprosencefalia
MA	maternal age	wiek ciężarnej
MC	megacystis	pęcherz moczowy olbrzymi
noDV	absent ductus venosus	wrodzony brak przewodu żylnego
NB	nasal bone	kostnienie nosa
NIPT	non-invasive prenatal testing	nieinwazyjne testy prenatalne

NPV	negative predictive value	wartość predykcji ujemnej
NT	nuchal translucency	przezierność karkowa
OMPH	omphalocele	przepuklina pępowinowa
OR	odds ratio	iloraz szans
PIV	pulsatility Index for veins	żylny indeks pulsacji
PPV	positive predictive value	wartość predykcji dodatniej
PS	Patau syndrome	zespół Patau
PWD	Pulsed Wave Doppler	Doppler pulsacyjny
revDV	reversed a-wave in DV flow	wsteczna fala a w spektrum tętna przewodu żylnego
SUA	single umbilical artery	pojedyncza tętnica pępkowa; pępowina dwunaczyniowa
TR	tricuspid regurgitation	niedomykalność zastawki trójdzielnej
T13	trisomy 13	trisomia 13
T18	trisomy 18	trisomia 18
T21	trisomy 21	trisomia 21
USG	-	ultrasonografia
WWS	-	wrodzona wada serca

Wprowadzenie

Prawidłowy kariotyp człowieka zawiera 46 chromosomów na co składają się 22 pary chromosomów autosomalnych oraz 1 para chromosomów płciowych. Aberracje chromosomowe to zaburzenia związane z nieprawidłową liczbą chromosomów lub zaburzeniem ich struktury. Najczęściej powstają spontanicznie, w wyniku wadliwego przebiegu procesu mejozy, ale niekiedy mogą być dziedziczne, jeśli któryś z rodziców jest nosicielem translokacji zrównoważonej.

Z kilkoma wyjątkami, większość przypadków aneuploidii jest przyczyną wczesnego poronienia. Znacznie rzadziej w tych przypadkach ciąża rozwija się dalej i kończy porodem żywego dziecka. Pod względem częstości występowania w zakresie nieprawidłowej liczby chromosomów autosomalnych wyróżniamy trzy najczęstsze trisomie: 21-szej pary chromosomów (zespół Downa)- z częstością około 1/1000 urodzeń, 18-tej pary (zespół Edwardsa)- z częstością około 1/5000 urodzeń oraz 13-tej pary występująca z częstością między 1/5000-20000 urodzeń. Niniejsza dysertacja dotyczy cech i skriningu w kierunku trisomii 13 u płodu w pierwszym trymestrze ciąży [1]. Podjąłem ten temat ponieważ to właśnie trisomia 13 stanowi duże wyzwanie w badaniach przesiewowych, a strategia diagnostyczna dotycząca tej anomalii nie jest jasno ustalona i często łączona ze skriningiem w kierunku trisomii 18.

Trisomia 13

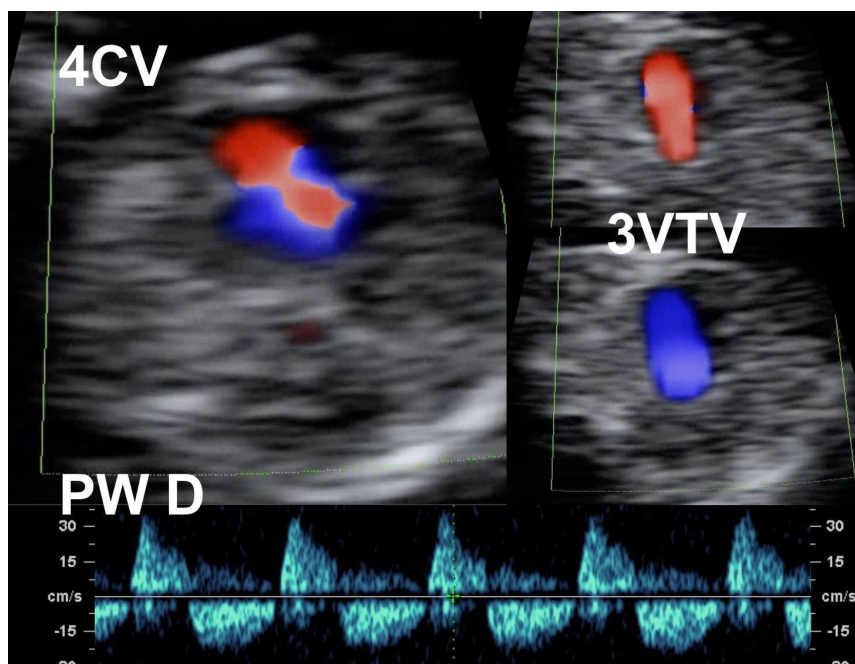
Trisomia 13 pary chromosomów (T13), to trzecia najczęstsza trisomia autosomalna [1,2]. Jest także określana nazwą zespołu Patau (PS). Przypuszczalnie pierwszy przypadek trisomii 13 opisał duński naukowiec Rasmus Bartholin w 1656 roku, jednak zespół nazwano na cześć genetyka Klausa Patau, który w 1960 roku odkrył i opisał cytogenetyczne podstawy tego zaburzenia [3,4]. Trisomia 13 jest klasyfikowana jako pełna trisomia, (47, XY, + 13)- powstająca w efekcie nieprawidłowego przebiegu mejozy (I lub II podziału), mitozy (mozaicyzm), lub częściowa trisomia, spowodowana występowaniem translokacji chromosomowej. Zespół Patau powstający w wyniku translokacji może być dziedziczony w przypadku, gdy jedno z rodziców jest nosicielem zrównoważonej translokacji materiału genetycznego między chromosomem 13 a innym chromosomem, czyli tak zwanej translokacji robertsonowskiej. Translokacja

zrównoważona w tym przypadku ma miejsce najczęściej pomiędzy 13 a 14 chromosomem i w 60% przypadków występuje de novo, w 25% jest dziedziczona po matce a w 15% po ojcu [5].

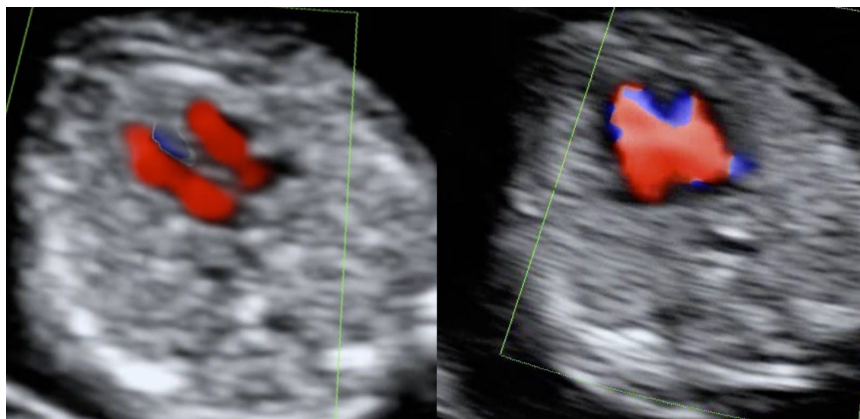
Częstość występowania T13 wynosi 1 na 5000–20 000 żywych urodzeń [1]. Według danych zebranych w rejestrze EUROCAT (*ang. European Surveillance of Congenital Anomalies*) wykazano, że częstość występowania PS stopniowo rośnie z 2.0 na 10 000 urodzeń w 2011 roku, do ponad 2.5 / 10 000 urodzeń w 2017 roku [6]. Wzrost ten jest prawdopodobnie związany z faktem, że Europejki coraz później decydują się na zajście ciążę. Według raportu Eurostat z 2015 roku, średni wiek kobiet rodzących pierwsze dziecko w Unii Europejskiej wynosi 29 lat, a ponad 40% Europejek rodzi pierwsze dziecko po trzydziestym roku życia. PS charakteryzuje się wysoką śmiertelnością wewnątrzmaciczną płodu, szacowaną na poziomie 46% [7]. Spośród ciąż, które kończą się porodem żywego dziecka 20% noworodków przeżywa pierwszy miesiąc życia, a 5% pierwsze 6 miesięcy [1].

W analizie dalszych losów 70 żywo urodzonych noworodków z T13 określono medianę czasu przeżycia na 7 dni, jednocześnie wykazano, że około 5-10% dzieci z T13 ma szansę żyć dłużej niż jeden rok [8]. Niemowlęta z PS umierają w 69% z powodu niewydolności krążeniowo-oddechowej, w 13% w związku z wrodzonymi wadami serca, w 4% z powodu zapalenia płuc. [9]

Należy podkreślić, że zespół Patau jest związany z szeregiem strukturalnych wad wrodzonych o charakterze ciężkim, a nawet letalnym. Najczęstszymi opisywanymi w literaturze anomaliami anatomicznymi w T13 są wady wrodzone serca (WWS) [Rycina 1 i 2]. Watson i wsp. wykazali, że WWS występują w 58% przypadków T13, natomiast Chen, że aż w 80% przypadków tej aneuploidii [2,10].



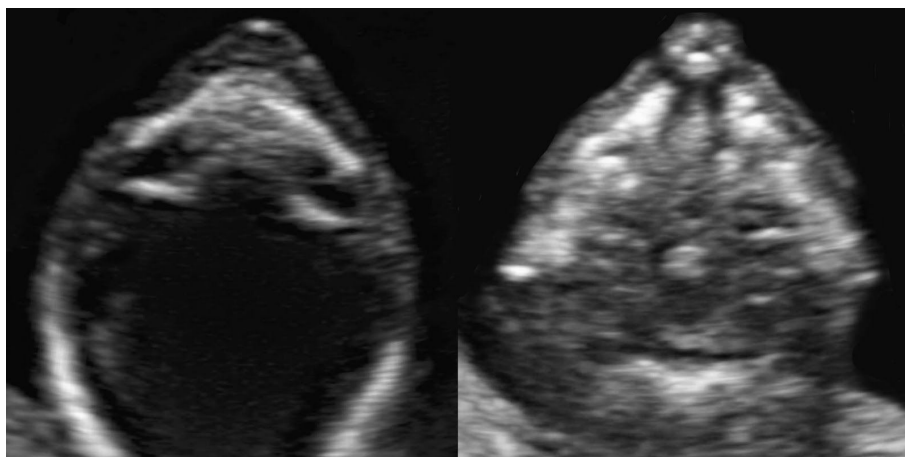
[Rycina 1] Serce jednokomorowe z pojedynczą drogą odpływu i pojedynczym pniem tętniczym wykazującym dwukierunkowy przepływ (płód z potwierdzoną trisomią 13, gdzie doszło do zatrzymania krążenia po 3 dniach od badania). 4CV= projekcja czterojamowa; 3VTV= projekcja trzech naczyń z tchawicą; PWD= Doppler pulsacyjny. Przypadek z grupy badanej.



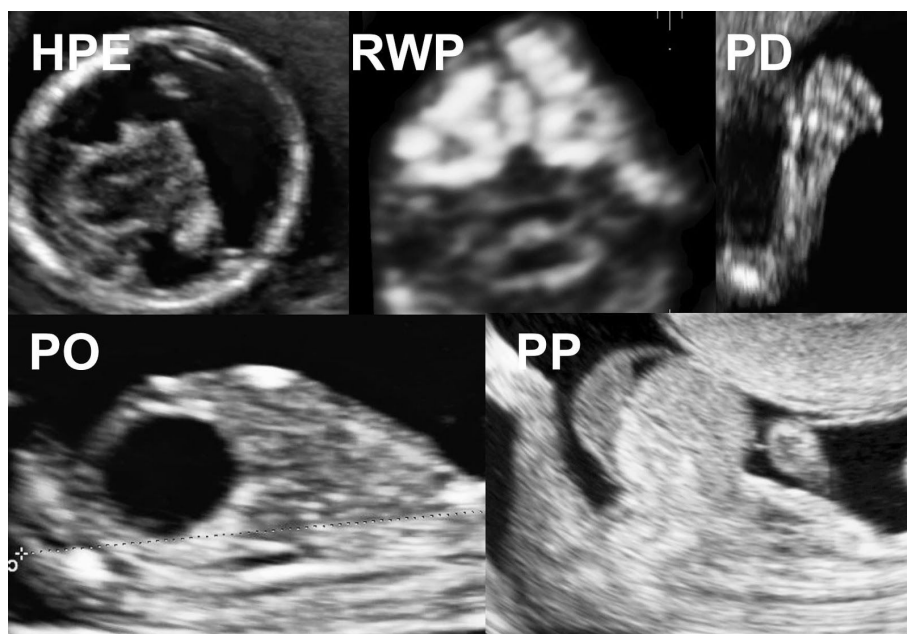
[Rycina 2] Obraz prawidłowej osi serca płodu (lewa strona euploidia) vs obraz mezokardii (strona prawa-trisomia13). Obrazy pochodzą z analizy grupy badanej.

Opisywane w literaturze pozasercowe wady strukturalne u płodów z PS to głównie wady centralnego systemu nerwowego (CSN), występujące z częstością 52.0-64.3% oraz wady twarzoczaszki, opisywane w 16-52% przypadków [11-14]. Wśród wad CSN, najczęściej obserwuje się holoprocencefalię i mikrocefalię, a wśród wad twarzoczaszki rozszczep wargi i podniebienia [Rycina 3]. Dość często przypadki T13 są obarczone wadami układu moczowego

(42.9% w badaniach Paap i wsp.) oraz wadami jamy brzusznej (9.1% w analizie Snijders i wsp.) [12,14]. Papageorghiou i wsp. wykazali na 181 przypadkach T13, że 50.2% płodów z T13 badanych w pierwszym trymestrze ciąży prezentowało przepuklinę pępowinową, holoprocencefalię i / lub pęcherz moczowy olbrzymi [15]. Wśród charakterystycznych wad wrodzonych spotykanych u płodów z T13 wymienia się także anomalie kończyn. W badaniu przeprowadzonym przez Szigeti i wsp. aż u 64% płodów dotkniętych PS wykazano wady z tej grupy. Autorzy tego doniesienia podnieśli również istotny problem utrudnionej diagnostyki ultrasonograficznej nieprawidłowości kończyn u płodów z T13, szczególnie w pierwszym trymestrze ciąży. Wykazali oni wady kończyn w ocenie prenatalnej tylko u 8% płodów, podczas gdy badania sekcyjne pokazały te anomalie aż u 64% płodów [13]. W kontekście wad narządu ruchu Witters i wsp. opisali pozaosiową polidaktylię z małymi hiperwypukłymi paznokciami jako cechę typową dla T13 [16]. Dodatkowo, w badaniach sekcyjnych w przypadkach T13 opisywano ubytki skóry [17].



[Rycina 3] Obraz podniebienia płodu w badaniu późnego pierwszego trymestru. Po lewej obraz prawidłowy, po prawej widoczny obustronny rozszczep podniebienia (płód z potwierdzonym PS). Obrazy pochodzą z analizy grupy badanej.



[Rycina 4] Wady stwierdzone u płodów z T13, obrazy uzyskane podczas badania I trymestru. PO= olbrzymi pęcherz moczowy; PP= przepuklina pępowinowa; RWP= rozszerzenie wargi i podniebienia; PD= polidaktylia; HPE= holoprocencefalia. Obrazy ultrasonograficzne na podstawie przypadków z grupy badanej.

Dane wyżej wymienionego rejestru EUROCAT zebrane w latach 2013–2017 wykazały 610 przypadków T13, z których 578 (94.7%) wykryto prenatalnie. Tylko 249 (40.8%) przypadków T13 zdiagnozowano w pierwszym trymestrze ciąży, natomiast 224 (36.5%) zostało rozpoznanych po 14 tygodniu ciąży. Należy zaznaczyć, że dane rejestru EUROCAT są niekompletne ponieważ w pozostałych 106 przypadkach (17.4%) nie podano informacji odnośnie wieku ciąży w czasie postawienia rozpoznania. Nie zmienia to znacząco faktu, że wskaźnik wykrywalności T13 w pierwszym trymestrze był stosunkowo niski w porównaniu z wskaźnikami dla trisomii 21 i trisomii 18 [6].

Co ciekawe zupełnie odmienne wyniki pokazują skriningowe badania obserwacyjne prowadzone głównie przez ośrodki związane z Fundacją Medycyny Płodowej (*ang. Fetal Medicine Foundation=FMF*). Badania te prowadzone w pierwszym trymestrze w kierunku T13 w oparciu o wiek matki, przezierność karku płodu (*ang. Nuchal Translucency=NT*) i biomarkery surowicze krwi ciężarnej wykazały wysoką czułość (*ang. Detection Rate=DR*) wynoszącą 90% z odsetkiem fałszywie dodatnich wyników (*ang. False Positive Rate=FPR*) na poziomie 0.5% [18]. Z kolei inne badania obserwacyjne wykazują skuteczność tej samej metodologii w formie tak zwanego testu złożonego (*ang. combined screening test=CST*) na poziomie 75% [19]. T13 wiąże się z obniżeniem surowiczych poziomów wolnej podjednostki β -hCG (*ang. β -Human Chorion Gonadotropin*) i PAPP-A (*ang. Pregnancy-Associated Plasma Protein A*) oraz

pogrubieniem przezierności karku płodu [18,20]. Zastosowanie surowiczych biomarkerów jako elementu do badań przesiewowych w kierunku T13 wstępnie wydaje się być mniej efektywne niż w przypadku innych aneuploidii, takich jak trisomia 21 (T21) i trisomia 18 (T18). Dodatkowo, coraz szerzej stosowane nieinwazyjne testy oparte na sekwencjonowaniu wolnego DNA pochodzenia kosmówkowego (cffDNA) z krwi ciężarnej (*ang. Non-Invasive Prenatal Testing= NIPT*), wykazujące w przypadku T21 DR powyżej 99% przy FPR 1%, w skriningu w kierunku T13 dają wyniki znacznie gorsze- DR na poziomie 80–91% przy FPR poniżej 1% [21-24]. Testy NIPT są póki co dość drogie, aby można było je stosować w szerszej populacji badanych ciężarnych. Wysokie koszty testów to główny powód, dla którego nie są one refundowane przez Narodowy Fundusz Zdrowia tak jak test CST dla populacji podwyższonego ryzyka. Niemniej jednak, Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników (PTGiP) rekomenduje wykonywanie NIPT w grupie tzw. pośredniego ryzyka wystąpienia T21, T18, T13, jednak wyłącznie w razie braku stwierdzenia nieprawidłowości anatomicznych w badaniu USG. Ryzyko pośrednie, stanowiące szarą strefę wyników badań przesiewowych, definiowane przez PTGiP to wynik indywidualnego ryzyka dla najczęstszych trisomii pomiędzy 1/300 a 1/1000. W zaleceniach PTGiP podkreślono także, że NIPT nie zastępuje klasycznego skriningu opartego na CST i ma za zadanie pełnić jedynie funkcję uzupełniającą [25]. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można stwierdzić, że T13 wykazuje najniższe wskaźniki wykrywalności spośród najczęstszych trisomii niezależnie od stosowanej polityki skriningowej [18-24].

Opóźnienie rozpoznania PS do drugiego trymestru ciąży przyczynia się do podwyższenia stopnia stresu rodziców chociażby ze względu na czynnik odczuwania ruchów płodu przez ciężarną i budowania więzi emocjonalnej z dzieckiem. Rozpoznanie postawione odpowiednio wcześnie, najlepiej na przełomie I/II trymestru, daje czas na wyważenie procesu decyzyjnego w kontekście decyzji o kontynuowaniu ciąży i ewentualnego przygotowania psychologicznego rodziców na możliwe następstwa, do których należy brak możliwości leczenia zespołu Patau.

Z przedstawionych powyżej faktów jasno wynika, że temat skriningu w kierunku trisomii 13 jest istotny i wymaga zgłębienia, szczególnie, że dotychczasowe publikacje nie skupiały się na prezentacji ultrasonograficznych cech występujących w przypadkach tej aberracji chromosomowej. Dodatkowo część publikacji prezentowało odmienną niecelowaną metodologię skupioną na pośrednim skriningu w kierunku T13.

Program badań prenatalnych w Polsce

W ramach refundowanego przez Narodowy Fundusz Zdrowia Programu Badań Prenatalnych ciężarnej, w późnym pierwszym trymestrze ciąży (między 11 tygodni + 0 dni a 13 tygodni + 6 dni) przysługuje test złożony oparty na badaniu ultrasonograficznym obejmującym pomiar grubości NT i częstości rytmu serca oraz oznaczeniu surowiczych biomarkerów, (PAPP-A oraz wolnej podjednostki β -hCG). Jest to uznana na świecie strategia skriningowa w kierunku najczęstszych trisomii. Programem jest objęta populacja podwyższonego ryzyka obejmująca głównie ciężarne starsze niż 35 lat, co sprawia, że większość ciężarnych w Polsce nie kwalifikuje się do tego badania. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego kobiety w Polsce rodzą dzieci najczęściej w wieku 25-34 lat [26]. Pełne kryteria kwalifikacji do Programu refundowanego przez NFZ obejmują: ukończone 35 lat (badanie przysługuje w danym roku kalendarzowym, w którym ciąża kończy 35 lat), wystąpienie w poprzedniej ciąży aberracji chromosomowej płodu lub dziecka, stwierdzenie u ciężarnej lub u ojca dziecka strukturalnych aberracji chromosomowych, stwierdzenie u pacjentki znacznie większego ryzyka urodzenia dziecka dotkniętego chorobą uwarunkowaną monogenetycznie lub wieloczynnikową i ostatnie, stwierdzenie nieprawidłowości wskazujących na zwiększone ryzyko aberracji chromosomowej lub wady płodu w badaniu USG i/lub badaniach biochemicznych płodu. Szczegóły są dostępne pod adresem <https://www.pacjent.gov.pl/program-profilaktyczny/program-badan-prenatalnych>.

Wbrew jednoznacznej rekomendacji PTGiP mówiącej o wykonywaniu skriningu w kierunku najczęstszych trisomii u wszystkich ciężarnych, z uwagi na stosunkowo wysokie koszty testu, pacjentki często poddają się wyłącznie samym badaniom ultrasonograficznym lub nie mają wykonywanych żadnych badań przesiewowych [25].

Warto przywołać ponownie dane rejestru EUROCAT (275 (45.08%) przypadków T13 wykryto u ciężarnych młodszych niż 35 lat w porównaniu z 303 (49,67%) przypadkami ciężarnych starszych niż 35 lat, w pozostałych 32 przypadkach (5.25%) nie podano informacji odnośnie wieku ciężarnych), z których jednoznacznie wynika, że T13 dotyczy niemal w równym stopniu kobiet przed i po 35 roku życia. Jest to kolejny argument, który przemawia za przeprowadzeniem badań oceny skuteczności ultrasonografii w wykrywaniu T13 [6].

Test złożony

Na test złożony składają się parametry ultrasonograficzne takie jak: pomiary grubości przezierności karkowej i częstości rytmu serca płodu oraz oznaczenia surowiczych biomarkerów (PAPP-A i wolnej podjednostki β -hCG). Wspomniane parametry uzupełnić należy danymi z wywiadu obejmującymi masę ciała, palenie tytoniu, pochodzenie etniczne, ewentualne stosowanie metod wspomaganego rozrodu oraz czy w poprzednich ciążach nie wykryto jednej z najczęstszych trisomii.

Wprowadzając powyższe dane do programu kalkulacji ryzyka opracowanego przez FMF badający uzyskuje wynik tak zwanego ryzyka skorygowanego, inaczej zwanego indywidualnym, dla najczęściej występujących trisomii: T21, T18 i T13. Ryzyko indywidualne jest wyliczone jako korekta ryzyka podstawowego wynikającego z wieku ciężarnej i wieku płodowego za pomocą odczytu wyżej wymienionych parametrów i danych z wywiadu. W Polsce zgodnie z rekomendacjami PTGiP przyjmuje się, że ryzyko indywidualne większe niż 1/300 dla każdej z najczęstszych trisomii jest traktowane jako podwyższone i spełnia wystarczająco wymogi kwalifikacji do testu diagnostycznego w formie biopsji kosmówki czy amniopunkcji [25]. Test złożony z założenia jest oparty jedynie na podstawowych parametrach ultrasonograficznych dlatego nie obejmuje tzw. drugorzędowych parametrów ultrasonograficznych takich jak kostnienie nosa, czynność zastawki trójdzielnej, przepływ w przewodzie żylnym czy wczesna ocena anatomiczna płodu.

Testy diagnostyczne w ciąży

Ciężarna, u której stwierdzono podwyższone ryzyko wystąpienia jednej, bądź kilku najczęstszych trisomii spełnia wskazania do przeprowadzenia testu diagnostycznego w celu ostatecznego potwierdzenia lub wykluczenia aberracji chromosomowej. Aktualnie stosuje się dwie metody testów diagnostycznych: biopsję kosmówki lub amniopunkcję. W Polsce znacznie częściej wykonuje się amniopunkcję niż biopsję kosmówki, co jest nietypową praktyką na tle innych krajów. Wynika ona głównie z braku tradycji wykonywania biopsji kosmówki oraz mniejszych doświadczeń polskich genetyków klinicznych konsultujących wyniki testów diagnostycznych z tą metodą. Ryzyko utraty ciąży związane zarówno amniopunkcją jak i biopsją kosmówki jest podobne. Zostało ono opisane w niedawno opublikowanej metaanalizie i oszacowane na około 0.1% [27].

Wieloparametrowy protokół USG

W prowadzonych przeze mnie i współpracowników badaniach obserwacyjnych zaproponowaliśmy alternatywną metodę skriningu późnego pierwszego trymestru w kierunku T13 przy użyciu wieloparametrowego badania USG, które na potrzeby badań nazwaliśmy protokołem "NT+". Poza NT i częstością rytmu serca płodu protokół obejmuje drugorzędowe markery ultrasonograficzne takie jak: przepływ w przewodzie żylnym (*ang. ductus venosus=DV*), czynność zastawki trójdzielnej (*ang. tricuspid flow=TF*), kostnienie nosa (*ang. nasal bone=NB*) oraz obecność dużych wad anatomicznych mających wpływ na ryzyko najczęstszych trisomii takich jak: przepuklina pępkowa lub pępowinowa (*ang. omphalocele=OMPH*), wspólny kanał przedsionkowo-komorowy (*ang. atrioventricular septal defect=AVSD*), pęcherz moczowy olbrzymi (*ang. megacystis=MC*), wrodzona przepuklina przeponowa (*ang. congenital diaphragmatic hernia=CDH*) i holoprozencefalia (*ang. holoprosencephaly=HPE*). We wcześniejszych badaniach prowadzonych przez mojego promotora protokół (NT+) wykazał obiecujące wyniki w zakresie wydolności skriningowej w kierunku T21 oraz T18 [28,29].

Przezierność karkowa

W latach dziewięćdziesiątych XX wieku, dzięki gwałtownemu rozwojowi ultrasonografii okazało się, że już pod koniec pierwszego trymestru ciąży w badaniu ultrasonograficznym u niektórych płodów można wykazać pogrubiałą objętość płynu w zakresie tkanki podskórnej okolicy karku. Parametr ten został nazwany przeziernością karkową i okazał się być związany z podwyższonym ryzykiem występowania zespołu Downa [30]. W kolejnych badaniach dowiedziono, że pogrubienie NT wiąże się z innymi rzadszymi aneuploidiami w tym również z trisomią 13 (występującą około dziesięciokrotnie rzadziej niż T21), a także z niektórymi wadami wrodzonymi serca i pozasercowymi [30]. Można więc powiedzieć, że strategia skriningowa w kierunku zespołu Patau została opracowana jako korzystny efekt uboczny skriningu w kierunku zespołu Downa w oparciu o NT oraz w kierunku T18 w oparciu o poziom biomarkerów surowiczych [30,31]. Metoda pomiaru NT jest aktualnie ściśle określona i wystandaryzowana. Pierwotne zasady przeprowadzenia tego pomiaru opracowano w 1998, a następnie rozpropagowała go FMF wprowadzając otwarty dla wszystkich badających protokół audytowania pomiarów [32]. Równolegle standaryzację pomiaru NT prowadzono w Stanach

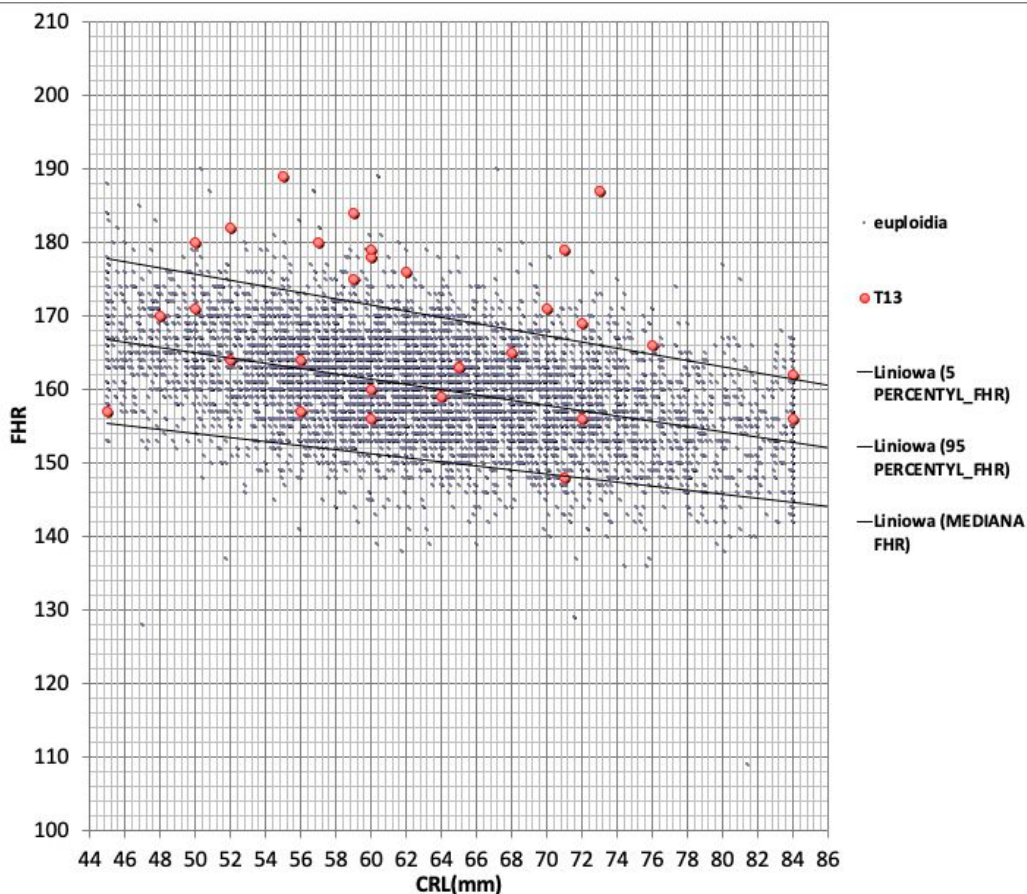
Zjednoczonych w ramach programu Nuchal Translucency Quality Review (NTQR) [33]. Certyfikat poprawnego wykonywania pomiaru NT jest przyznawany przez FMF, a także przez NTQR a rozkład wykonanych pomiarów podlega corocznemu audytowi. NT jest uznany jako pierwszorzędowy marker ultrasonograficzny w późnym pierwszym trymestrze i jest składową testu złożonego. Optymalny wiek ciążowy do wykonania pomiaru NT to okres między 11-tym tygodniem, a 13-tym tygodniem i 6.-tym tygodniem ciąży, co odpowiada długości ciemieniowo siedzeniowej (*ang. crown-rump length=CRL*) między 45-84mm [30]. Około 15 tygodnia ciąży NT najczęściej ulega absorpcji, jednak niekiedy może przekształcić się w obrzęk karkowy (*ang. nuchal oedema*) lub prezentować wodniak karku (*ang. cystic hygroma*) [34].



[Rycina 5] Przezierność karkowa. Od lewej- obraz prawidłowy; środek- płód z trisomią 13 z pogrubiałą przeziernością karkową; prawo- płód z trisomią 13 z prawidłową przeziernością karkową, jednak z rozszczepem wargi i podniebienia. Obrazy ultrasonograficzne na podstawie grupy badanej.

Częstość rytmu serca płodu.

W ciąży fizjologicznej częstość rytmu serca płodu wzrasta od ok. 110 uderzeń na minutę w 5 tygodniu ciąży do 170 w 9 tygodniu, następnie obserwuje się stopniowy spadek tętna płodu do ok. 150 uderzeń na minutę w 13 tygodniu ciąży. W przypadku występowania aberracji chromosomowych zaobserwowano odmienności [35]. Udowodniono, że u płodów z zespołem Turnera i T13 częściej występuje tachykardia, a w przypadku T18- bradykardia [35-37].

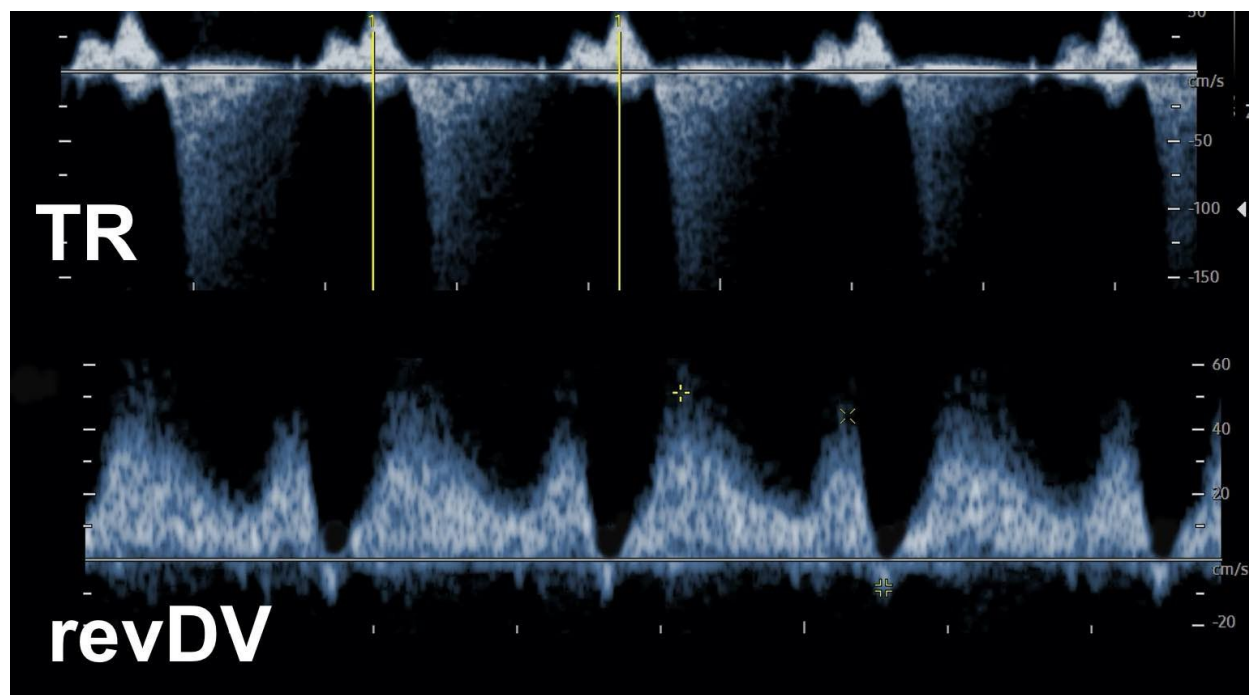


[Rycina 6] Rozkład częstości rytmu serca płodu (FHR) w odniesieniu do długości ciemieniowo-siedzeniowej (CRL) u płodów z euploidią (niebieskie punkty) oraz z trisomią 13 (czerwone punkty) na podstawie prowadzonych przeze mnie badań. Zwraca uwagę tendencja do tachykardii u płodów z T13.

Markery drugorzędowe

Drugorzędowe markery sonograficzne aberracji chromosomowych uwzględnione w programie do kalkulacji ryzyka FMF to profil przepływu w przewodzie żylnym (*ang. ductus venosus=DV*), charakteryzowany za pomocą oporu przepływu wyrażonego w indeksie pulsacji dla żył=PIV), czynność zastawki trójdzielnej (*ang. tricuspid flow=TF*) oraz kostnienie nosa (*ang. nasal bone=NB*). Udowodniono, że u płodów z nieprawidłowym kariotypem (ale również z wrodzonymi wadami serca) znacznie częściej obserwuje się niedomykalność zastawki trójdzielnej (*ang. tricuspid regurgitation=TR*) oraz profil przepływu wykazujący ujemną „falę a” w spektrum przepływu DV (*revDV*). Wagner i wsp. opisał występowanie tych dodatknych markerów w przypadku płodów z PS odpowiednio na poziomie 46.2% i 61.5% [38]. Opóźnione kostnienie nosa jest także niezależnym markerem aberracji chromosomowych. Cicero i wsp. opisali obecność tego dodatkiego markera u płodów z T13 na poziomie 31.8% w porównaniu do

3% płodów z prawidłowym kariotypem [39]. Kolejnym markerem dla najczęstszych trisomii (nieuwzględnionym jednak w programie do kalkulacji ryzyka wg FMF) jest liczba tętnic pępkowych. Dwunaczyniowa pępowina (*ang. SUA=single umbilical artery*) jest częściej obserwowana w przypadkach aneuploidii. Ten marker pozostaje w największej korelacji z T18, jednak występuje także znacznie liczniej u płodów z T13- z częstością opisywaną w literaturze na poziomie 10-50% przypadków [2].



[Rycina 7] Krążeniowe zmiany czynnościowe u płodów z T13: niedomykalność zastawki trójdzielnej (TR) oraz ujemna fala a w fali tętna z przewodu żylnego (revDV).

Cele badań

Głównym celem przeprowadzonych przeze mnie badań była analiza wydolności protokołu badawczego opartego jedynie na ultrasonografii w kierunku wykrywania trisomii 13 (T13) w badaniu późnego pierwszego trymestru ciąży. Dodatkowo porównałem wydolność wieloparametrowej ultrasonografii jako strategii skriningowej późnego pierwszego trymestru z wydolnością rutynowo stosowanego testu złożonego.

Cele szczegółowe

1. Ocena skuteczności wieloparametrowego protokołu ultrasonograficznego (NT+) w skriningu w kierunku T13 w późnym pierwszym trymestrze.
2. Opis najbardziej charakterystycznych wzorców i koincydencji markerów ultrasonograficznych oraz anomalii strukturalnych związanych z PS oraz opracowanie modelu regresji logistycznej określającego iloraz szans dla najczęściej występujących cech.
3. Porównanie wydolności skriningowej wieloparametrowego protokołu sonograficznego (NT+) z klasycznym protokołem opartym na teście złożonym (CST) w wykrywaniu T13.
4. Analiza wpływu wieku ciężarnej na wyniki skriningu w kierunku T13.

Publikacje składające się na dysertację

1. **Rajs B**, Nocuń A, Matyszkiewicz A, Pasternok M, Kołodziejski M, Wiercińska E, Wiecheć M. First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester. J Perinat Med. 2020 Oct 19;1-11. doi:10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print.

Journal of Perinatal Medicine, De Gruyter, Niemcy - jest oficjalnym czasopismem naukowym Światowego Stowarzyszenia Medycyny Perinatalnej (World Association of Perinatal Medicine). IF:1.614; MNiSW: 40.

2. **Rajs B**, Pasternok M, Nocuń A, Matyszkiewicz A, Ziętek D, Rozmus-Warcholińska W, Zalewski S, Migda M, Mavrikis J, Wiecheć M. Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol. J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi:10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print.

Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, Taylor & Francis Group, Wielka Brytania – jest oficjalnym czasopismem Europejskiego Towarzystwa Medycyny Perinatalnej (European Association of Perinatal Medicine); Międzynarodowego Towarzystwa Położników Perinatalnych (the International Society of Perinatal Obstetricians); oraz Federacji Towarzystw Perinatalnych Azji i Oceanii (the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies). IF:1.737; MNiSW: 70.

Na badania składające się na dysertację uzyskano zgody Komisji Bioetycznej Okręgowej Izby Lekarskiej w Krakowie (nr 77/KBL/OIL/2012, oraz nr 156/KBL/OIL/2017).

Podsumowanie metodologii badań składających się na dysertację

Obie publikacje obejmowały badania prospektywne, oparte na niewyselekcjonowanej populacji ciężarnych skierowanych na badania przesiewowe pierwszego trymestru ciąży. Dane zostały zebrane z uwzględnieniem następujących kryteriów włączenia: ciąża pojedyncza, pomiar odległości ciemieniowo-siedzeniowej (CRL) 45–84 mm i znane wyniki położnicze w poszczególnych przypadkach. Kryteria wyłączenia obejmowały aberracje chromosomowe inne niż trisomia 13, przypadki w których nie udało się ustalić dalszych losów ciąży lub doszło do poronień niezwiązanych z diagnostyką inwazyjną lub obumarcia płodu bez późniejszej weryfikacji sekcyjnej. Badacze, którzy wykonywali badania skriningowe na potrzeby publikacji są specjalistami posiadającymi wysokie kwalifikacje w kontekście pełnego zestawu markerów ultrasonograficznych zgodnie z certyfikacją FMF oraz doświadczenie w zakresie wczesnego badania serca płodu w późnym pierwszym trymestrze ciąży. Na potrzeby analiz NT i FHR uznano za pierwszorzędowe ultrasonograficzne markery aneuploidii, a za markery drugorzędowe: kostnienie nosa, przepływ na zastawce trójdzielnej, przepływ w przewodzie żylnym i liczbę tętnic pępkowych. Pojęcie „dużych wad” obejmowało wady strukturalne zwiększające indywidualne ryzyko dla najczęstszych trisomii wg FMF: przepuklina pępkowa lub pępowinowa, wspólny kanał przedstonkowo-komorowy, pęcherz moczowy olbrzymi, wrodzona przepuklina przeponowa, holoprozencefalia. Obliczenia ryzyka dla najczęstszych trisomii przeprowadzono przy użyciu oprogramowania FMF 2.8.0_3 (Astraia GmbH, Monachium, Niemcy). Poziomy surowicze biomarkerów: wolnej podjednostki β -hCG i PAPP-A wyrażono w MoM (*ang. multiples of the median*) z odczytów z próbek surowicy krwi ciężarnych za pomocą akredytowanego analizatora Cobas E4 (Roche, Mannheim, Niemcy).

Grupa badana w Publikacji 1 obejmowała 5 901 przypadków, w tym 56 przypadków T13. Protokół badania obejmował pełną, pozasercową anatomię płodu wraz z oceną serca płodu, zgodnie z protokołem opisanym przez Springhall EA i wsp. [40]. Ultrasonograficzne markery aberracji chromosomowych (NT, NB, TF, DV) badano zgodnie z zaleceniami FMF. W szczegółowej analizie anatomii płodu odnotowano wszystkie wykazane anomalie strukturalne, także te niewpływające na ryzyko najczęstszych trisomii.

W Publikacji 2, grupa „CSG” (*ang. Combined Screening Group*) była poddana klasycznemu testowi złożonemu, natomiast grupa „USG” (*ang. Ultrasound Screening Group*) wieloparametrowemu testowi ultrasonograficznemu (test NT+). W ramieniu USG badana grupa

liczyła 7 954 pacjentek w tym 30 przypadków T13, a w ramieniu CSG- 12 906 pacjentek w tym 27 płodów z T13.

Sprzęt medyczny

Ultrasonograficzne badania przesiewowe wykonano przy użyciu ultrasonografów: Voluson E6 (GE Healthcare, Zipf, Austria) lub WS80 Elite (Samsung, Seul, Korea).

Analiza statystyczna

Wydolność skriningu mierzono za pomocą następujących parametrów: DR (czułość, inaczej współczynnik wykrywalności), FPR (odsetek wyników fałszywie dodatnich, inaczej 1-swoistość), PPV (dodatnia wartość predykcyjna), NPV (ujemna wartość predykcyjna) i dokładność diagnostyczna.

W ocenie danych statystycznych do oceny zmiennych ciągłych zastosowano test Kołmogorowa-Smirnowa. Dla zmiennych ilościowych wyliczono średnie, odchylenia standardowe i mediany. Do wykazania różnic zastosowano test χ^2 . Grupy zmiennych niezależnych porównano za pomocą testu t-Studenta, a średnie wartości za pomocą nieparametrycznego testu U Manna – Whitneya. W analizach statystycznych używano oprogramowania SPSS Statistics v.17 (IBM Co., Nowy Jork, USA). Wyniki z $p < 0.05$ przyjęto za istotne statystycznie. W Publikacji 1, w oparciu o najczęstsze wyniki badań ultrasonograficznych prezentujące $OR > 1$ w T13, opracowano model regresji logistycznej.

Podsumowanie wyników przeprowadzonych badań

W grupie badanej w Publikacji 1 wykazałem istotne statystycznie różnice między grupą płodów z T13 a euploidą pod kątem: grubości NT, kostnienia nosa, czynności zastawki trójdzielnej, profilu przepływu w DV, budowy pępowiny, częstości rytmu serca oraz wieku ciążarnej. Nie wykazałem natomiast istotności statystycznej w przypadku długości ciemieniowo-siedzeniowej.

Wady serca zaobserwowałem u 41.1% płodów z PS, z czego najczęstszymi okazały się wady lewego serca (19.6%). Dodatkowo w grupie płodów z T13 statystycznie częściej występowała mezokardia względem płodów z euploidią - ta obserwacja nie była dotąd opisywana w literaturze.

W ocenie anatomii pozasercowej wykazałem nieprawidłowości strukturalne u 53.6% płodów z T13, w tym mnogie anomalie w dwudziestu jeden procentach przypadków. Pod względem częstości występowania najliczniej występowały: wady CSN (26.8%), wady jamy brzusznej (21.4%), wady kończyn (9.5%), wady twarzoczaszki (7.9%) oraz wady układu moczowego (7.1%).

W Publikacji 2, zarówno w grupie badanej w ramieniu USG jak i CSG nie wykazałem istotnych statystycznie różnic pomiędzy euploidią a T13 pod kątem CRL oraz wieku ciążarnych. Istotność statystyczną uzyskałem natomiast pod kątem wartości NT oraz FHR, a w ramieniu CSG dodatkowo w przypadku stężenia b-HCG i PAPP-A w surowicy krwi matki.

Ocena skuteczności wieloparametrowego protokołu sonograficznego (NT+) w skriningu w kierunku T13 w badaniu wykonywanym pomiędzy jedenastym, a czternastym tygodniem ciąży.

Najwyższą czułość uzyskałem dla punktu odcięcia 1/300 przy użyciu algorytmu „NT+ T13”. Stosując ten test uzyskałem w Publikacji 1 czułość 78.6% przy FPR 1.2% a w Publikacji 2 83.3% przy FPR 1.8%. Liczba płodów z potwierdzoną T13 badanych zgodnie z algorytmem NT+ była prawie dwukrotnie większa w grupie badanej w Publikacji 1 dlatego uważam, że otrzymane wyniki są bardziej reprezentatywne. W Publikacji 1 oprócz algorytmu FMF celowanego dla T13 przeanalizowałem dodatkowo algorytmy pierwotnie przeznaczone do

skriningu w kierunku T21 i T18 dla trzech punktów odcięcia- 1/50, 1/100, 1/300. Szczegóły przedstawiłem w Tabeli 1.

Metoda skriningu	NT+T13 1/50	NT+T13 1/100	NT+T13 1/300	NT+T21 1/50	NT+T21 1/100	NT+T21 1/300	NT+T18 1/50	NT+T18 1/100	NT+T18 1/300
Czułość	64.3%	69.6%	78.6%	53.6%	58.9%	66.1%	60.7%	62.5%	69.6%
Swoistość	99.3%	99.2%	98.8%	98.0%	96.9%	96.2%	99.1%	98.9%	97.9%
PPV	47.4%	44.8%	37.9%	20.0%	15.1%	13.7%	39.1%	34.6%	23.3%
NPV	99.7%	99.7%	99.8%	99.6%	99.6%	99.7%	99.6%	99.6%	99.7%

Tabela 1. Porównanie wydolności skriningowej metod zaproponowanych w Publikacji 1. Skróty: T13 = trisomia 13, T18 = trisomia 18, T21 = trisomia 21, PPV = dodatnia wartość predykcyjna, NPV = ujemna wartość predykcyjna.

Wyodrębnienie najbardziej charakterystycznych koincydencji markerów ultrasonograficznych i wad wrodzonych związanych z T13 oraz opracowanie modelu regresji logistycznej określającego iloraz szans dla najczęściej występujących cech.

W Publikacji 1 opisałem koincydencje dodatnich markerów ultrasonograficznych u płodów z T13. Co najmniej jeden marker wykazałem u 75% płodów z T13 w porównaniu z 19.3% płodów z prawidłowym kariotypem. Izolowane markery zidentyfikowałem w 10 przypadkach trisomii 13 (17,9%), w tym: w 7 przypadkach FHR powyżej 95. percentyla; w jednym przypadku NT powyżej 95. percentyla; w 2 przypadkach wsteczną falę a w spektrum tętna przewodu żylnego (revDV). Najczęściej występowały następujące koincydencje markerów: FHR powyżej 95. percentyla z NT powyżej 95. percentyla w 16 przypadkach (28,6%); FHR powyżej 95. percentyla i revDV w 13 przypadkach (23,2%); FHR powyżej 95. percentyla z brakiem NB w 13 przypadkach (23,2%) i FHR powyżej 95. percentyla z TR w 12 przypadkach (21,4%).

Oznacza to, że znaczna grupa przypadków T13 (25%) nie prezentowała żadnego z pierwszo- lub drugorzędowych markerów ultrasonograficznych dla najczęstszych trisomii. Izolowane dodatnie markery ultrasonograficzne wykazałem u 17.9% płodów z T13. Jedynie w pozostałych 57.1% przypadków T13 stwierdziłem współistnienie więcej niż jednego z dodatnich markerów. Moim zdaniem fakt, że u tak znacznej liczby płodów z T13 nie wykazałem żadnego z dodatnich markerów lub stwierdzono jedynie izolowane dodatnie markery, jest kolejnym powodem, dla którego badanie przesiewowe w kierunku T13 w pierwszym trymestrze jest obarczone niższą czułością, szczególnie biorąc pod uwagę zastosowanie strategii opartej wyłącznie na badaniu ultrasonograficznym.

Kolejnym celem badawczym, który wyznaczyłem było opracowanie modelu regresji logistycznej w oparciu o najczęstsze cechy ultrasonograficzne prezentowane przez płody z T13 podczas badania późnego pierwszego trymestru. Wyniki tych analiz zostały przedstawione w Publikacji 1. Za punkt odcięcia przyjąłem iloraz szans powyżej 1 (*ang. odds ratio=OR*). Uzyskałem następujące wyniki: opóźnione kostnienie nosa ($OR= 6.3$), NT powyżej 3 mm ($OR= 36.5$), obecność wady ośrodkowego układu nerwowego ($OR= 205.4$), obecność wady jamy brzusznej ($OR= 24.3$), obecność wady lewego serca ($OR= 18.2$) oraz obecność nieprawidłowego profilu przepływu w przewodzie żylnym z ujemną falą a ($OR= 3.1$). Na podstawie tych obserwacji wykazałem, że są to cechy wymagające szczególnej uwagi w kontekście skriningu w kierunku T13.

Porównanie wydolności skriningowej wieloparametrowego protokołu ultrasonograficznego (NT+) z klasycznym protokołem opartym na teście złożonym (CST) w skriningu w kierunku T13.

W Publikacji 2 wykazałem, że czułość wykrywania T13 jest wyższa w ramieniu CSG niż w ramieniu USG dla wszystkich analizowanych punktów odcięcia: 1/50 (odpowiednio 88.5 vs 63.3%), 1/100 (odpowiednio 88.5 vs 70.0%) i 1/300 (odpowiednio 92.3 vs 83.3%). Za pomocą odcięcia 1/50 uzyskałem niezadowalające wyniki zarówno w tradycyjnym teście CST, jak i w wieloparametrowym teście ultrasonograficznym. Należy jednak zauważyć, że ten punkt odcięcia jest wskazany w programie FMF jako zalecany.

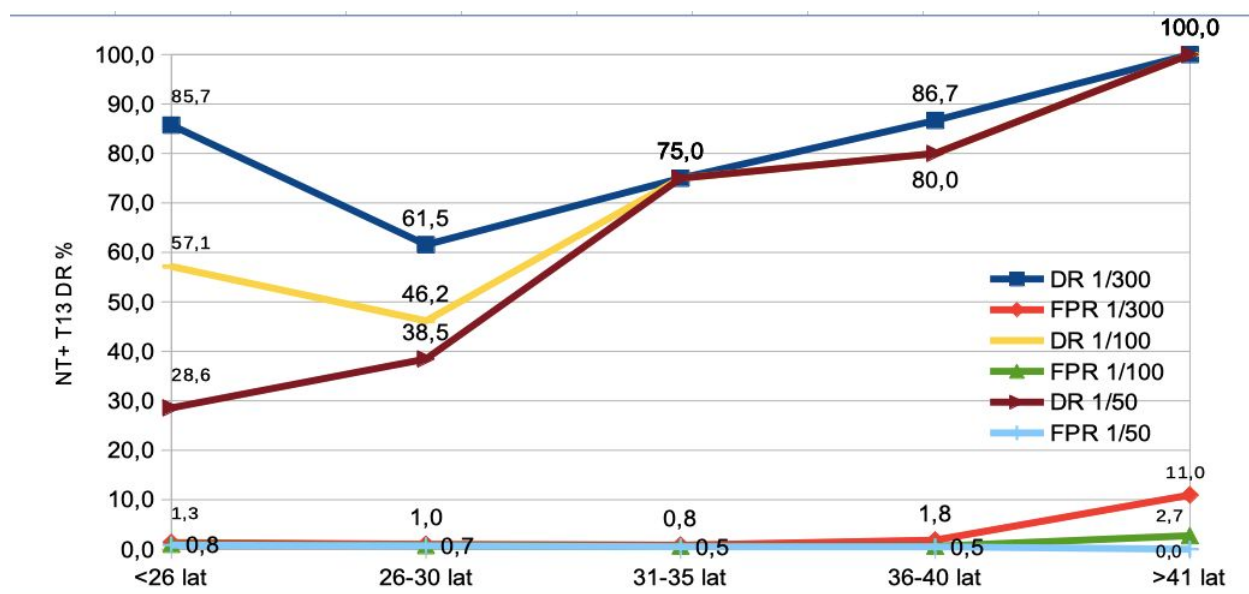
Najbardziej efektywnym punktem odcięcia dla obu metod przesiewowych w kierunku T13 wydaje się być 1/300. W tym przypadku uzyskałem zadowalające wyniki i najmniejszą różnicę w zakresie parametrów wydolności skriningowej poszczególnych testów. W przypadku

wieloparametrowego testu ultrasonograficznego uzyskałem czułość 83.3% przy FPR 1.8%, a dla tego samego punktu odcięcia w teście CST uzyskaliśmy DR 92.3% przy FPR 2.5%.

Analiza wpływu wieku ciężarnej (MA) na wyniki skriningu w kierunku T13.

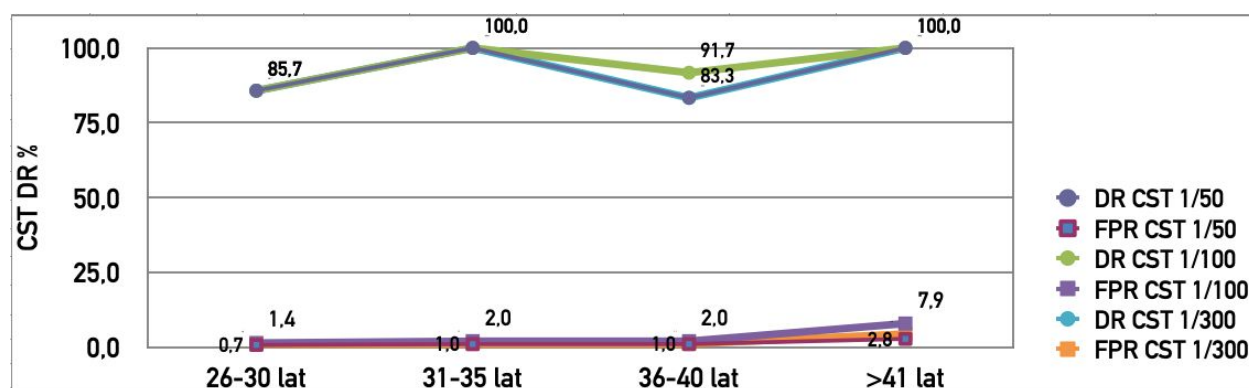
W analizie wydolności skriningowej zastosowanego przeze mnie wieloparametrowego algorytmu ultrasonograficznego NT+ w zależności od wieku ciężarnej (Publikacja 1), można ogólnie stwierdzić, że jest ona niedostateczna u młodszych ciężarnych. W zakresach wieku ciężarnych między 26 a 30 lat oraz między 31 a 35 lat model „NT + T13” z punktem odcięcia 1/300 wykazał czułość 61.5% i 75.0% przy FPR odpowiednio 1% i 0.8%, co sugeruje, aby nie stosować tego testu w wyżej wymienionych grupach wiekowych. Z kolei w najmłodszej grupie ciężarnych (MA <26 lat) wyniki tego modelu skriningowego były obiecujące (czułość 85.7% przy FPR 1.3%). Najlepszą wydolność skriningową uzyskałem stosując test NT+ z odcięciem 1/300 u ciężarnych w wieku powyżej 36 lat prezentującą czułość 86.7% przy FPR 1.8% w grupie ciężarnych między 36 a 40 rokiem życia oraz czułość 100% przy FPR 11% w wieku powyżej 40 lat.

Wydolność skriningowa uzyskana za pomocą protokołów wieloparametrowej ultrasonografii opartych na celowanych algorytmach FMF dla zespołu Downa i zespołu Edwardsa (NT + T18 oraz NT + T21) była ogólnie słabsza. Jednak w grupie młodszych ciężarnych zastosowanie algorytmu NT + T18, z punktem odcięcia 1/300 skutkowało nieco lepszą czułością (DR w przedziale wieku 26-30 lat i 31-35 lat wynosiło odpowiednio 62.5% i 80.0%, przy FPR odpowiednio 2.4% i 4.8%). Znaczący spadek czułości u ciężarnych w wieku poniżej 36 lat był zauważalny dla punktów odcięcia 1/100 i 1/50, zwłaszcza dla algorytmu celowanego dla trisomii 13 (NT + T13) [Ryc.8].



[Ryc. 8] Wydolność skringowa testu wieloparametrowego (NT+ T13) w zależności od wieku ciężarnej. DR= detection rate; FPR= false positive rate.

W Publikacji 2 zaobserwowałem podobną jak w Publikacji 1 zależność dla grupy badanej w ramieniu “USG”, natomiast w ramieniu “CSG” nie zaobserwowałem istotnego wpływu wieku ciężarnych na wydolność testu, jednak należy zauważyć, że badana grupa nie obejmowała ciężarnych w wieku poniżej 26 roku życia [Ryc. 9].



[Ryc. 9] Wydolność skringowa testu złożonego w zależności od wieku ciężarnej. Skróty: DR= detection rate; FPR= false positive rate; CST= combined screening test.

Wnioski

Podsumowując wyniki zaproponowanego w moich badaniach testu skriningowego opartego wyłącznie na wieloparametrowym badaniu ultrasonograficznym w skriningu w kierunku T13 uzyskałem obiecujące wyniki u ciężarnych w wieku powyżej 36 lat oraz niedostateczne u ciężarnych w wieku między 26 a 36 lat. Doszedłem do takich wniosków biorąc pod uwagę najniższy punkt odcięcia 1/300 w celowanym algorytmie NT+ T13. U młodszych ciężarnych stwierdziłem istotnie niższą wydolność skriningową tego testu. Moim zdaniem główną przyczyną tego faktu jest wpływ czynnika wieku ciężarnej poniżej 35 lat zastosowany w algorytmie FMF, co w niektórych przypadkach, mimo obecności nieprawidłowości w badaniu ultrasonograficznym, powoduje obniżenie wartości indywidualnego ryzyka dla T13. Dodatkowo należy podkreślić, że algorytm FMF nie uwzględnia bardziej swoistych anomalii strukturalnych dla trisomii 13 takich jak rozszczep wargi i podniebienia, polidaktylia czy wady lewego serca. W związku z tym test złożony okazał się być skuteczniejszy w wykrywaniu T13 niż wieloparametrowy test ultrasonograficzny. Zalecana w programie FMF wartość punktu odcięcia 1/50 wykazała niezadowalające wyniki zarówno w przypadku tradycyjnego CST, jak i zaproponowanego przeze mnie wieloparametrowego testu ultrasonograficznego.

Podczas badania skriningowego w kierunku T13 szczególną uwagę należy zwrócić na występowanie kombinacji wad lewego serca, wad CSN, jamy brzusznej, grubości NT powyżej 95. percentyla, częstości rytmu serca powyżej 95. percentyla, profilu przepływu z ujemną falą a w DV i opóźnionego kostnienia nosa.

Streszczenie w języku polskim

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Bartosza Rajsa pt. *“Możliwości i ograniczenia badań przesiewowych w późnym pierwszym trymestrze ciąży w kierunku trisomii 13”* (*‘Capabilities and limitations of late first-trimester screening for Trisomy 13’*).

Wstęp

Trisomia 13 pary chromosomów (T13), to trzecia najczęstsza trisomia autosomalna. Jest także określana mianem zespołu Patau (PS). Występuje z częstością między 1/5000-20000 żywych urodzeń. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można stwierdzić, że T13 wykazuje najniższe wskaźniki wykrywalności spośród najczęstszych trisomii niezależnie od stosowanej polityki skringowej. Badania przesiewowe prowadzone w pierwszym trymestrze ciąży w kierunku T13, w oparciu o klasyczny rekomendowany, test złożony (*ang. combined screening test=CST*), w którym oceniane są takie parametry jak: wiek ciężarnej, grubość przezierności karku u płodu (*ang. Nuchal Translucency=NT*) i poziomy surowicze biomarkerów krwi ciężarnej, wykazały czułość (*ang. Detection Rate=DR*) mieszczącą się w przedziale 75-90%. Zastosowanie surowiczych biomarkerów jako elementu do badań przesiewowych w kierunku T13 wstępnie wydaje się być mniej efektywne niż w przypadku innych aneuploidii, takich jak trisomia 21 (T21) i trisomia 18 (T18). Ponadto coraz szerzej stosowane nieinwazyjne testy oparte na sekwencjonowaniu wolnego DNA pochodzenia kosmówkowego (cffDNA) z krwi ciężarnej (*ang. Non-Invasive Prenatal Testing= NIPT*), wykazujące w przypadku T21 DR powyżej 99% przy FPR 1%, w skringu w kierunku T13, dają wyniki znacznie gorsze- DR na poziomie 80–91% przy FPR poniżej 1%.

W warunkach polskich, z uwagi na ograniczenia w dostępie do refundowanego Programu Badań Prenatalnych, znaczna część ciężarnych poddawana jest w I trymestrze jedynie badaniu USG.

Cele badań

Głównym celem moich badań była analiza wydolności protokołu badawczego opartego jedynie na ultrasonografii w kierunku wykrywania trisomii 13 w badaniu późnego pierwszego trymestru ciąży.

W Publikacji 1 analizowałem wyniki skriningu w oparciu o wieloparametrowe badanie USG wraz ze szczegółową oceną anatomii płodu. Na tej podstawie walidowałem jego wydolność w wykrywaniu T13; opisałem najbardziej charakterystyczne wzorce i koincydencje markerów ultrasonograficznych oraz anomalii strukturalnych związanych z PS; opracowałem model regresji logistycznej określający iloraz szans (ang. Odds ratio= OR) dla najczęściej występujących cech T13.

W Publikacji 2 porównałem wydolność wieloparametrowego protokołu USG ze skriningiem opartym na tradycyjnym teście złożonym. Dodatkowo w obu publikacjach analizowałem wpływ wieku ciężarnej na wyniki badań przesiewowych.

Material i metodyka

Analizowałem wydajność skriningu w kierunku T13 w populacji ciężarnych skierowanych na badania przesiewowe pierwszego trymestru ciąży. Kwalifikacja pacjentek do grup badanych przebiegała z uwzględnieniem następujących kryteriów włączenia: ciąża pojedyncza, pomiar długości ciemieniowo-siedzeniowej (CRL) 45–84 mm i znany wynik położniczy danego przypadku. W prowadzonych badaniach obserwacyjnych zastosowałem alternatywną metodę skriningu późnego pierwszego trymestru w kierunku T13 przy użyciu wieloparametrowego badania USG, które na potrzeby badań nazwałem protokołem “NT+”. Poza przeziernością karkową i częstością rytmu serca płodu protokół ten zawierał drugorzędowe markery ultrasonograficzne takie jak: wartość indeksu pulsacji przepływu w przewodzie żylnym, czynność zastawki trójdzielnej, kostnienie nosa oraz obecność dużych wad anatomicznych mających wpływ na ryzyko najczęstszych trisomii (przepuklina pępkowa lub pępowinowa, wspólny kanał przedsionkowo-komorowy, pęcherz moczowy olbrzymi, wrodzona przepuklina przeponowa i holoprozencefalia), bez uwzględnienia surowiczych biomarkerów.

Grupa badana w Publikacji 1 (*First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester. Journal of Perinatal Medicine, De Gruyter, Niemcy*) obejmowała 5 901 przypadków, w tym 56 przypadków T13. Protokół badania obejmował skrining w oparciu o test NT+ oraz pełną ocenę anatomii płodu. Ultrasonograficzne markery

aberracji chromosomowych (NT, NB, TF, DV) badano zgodnie z zaleceniami FMF. W szczegółowej analizie anatomii płodu odnotowano wszystkie uwidocznione anomalie strukturalne, także te nie wpływające na ryzyko najczęstszych trisomii.

W Publikacji 2 (*Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Taylor&Francis Group, Wielka Brytania*), grupa "CSG" (ang. Combined Screening Group) była poddana klasycznemu testowi złożonemu, natomiast grupa "USG" (ang. Ultrasound Screening Group) wieloparametrowemu testowi ultrasonograficznemu (test NT+). W ramieniu USG badana grupa liczyła 7 954 pacjentek, w tym 30 przypadków T13, a w ramieniu CSG 12 906 pacjentek, w tym 27 płodów z T13.

Obliczenia ryzyka przeprowadziłem przy użyciu oprogramowania FMF 2.8.0_3 (Astraia GmbH, Monachium, Niemcy).

Podsumowanie wyników i wnioski

Najwyższą ogólną czułość algorytmu „NT+T13” wykazałem dla punktu odcięcia 1/300. Stosując ten test uzyskałem w Publikacji 1 czułość 78.6% przy FPR 1.2%, a w Publikacji 2 83.3% przy FPR 1.8%.

W Publikacji 1 opisałem koincydencje dodatnich markerów ultrasonograficznych u płodów z T13. Co najmniej jeden marker wykazałem u 75% płodów z T13 w porównaniu z 19.3% płodów z prawidłowym kariotypem. Izolowane dodatnie markery ultrasonograficzne stwierdziłem u 17.9% płodów z T13. Jedynie w pozostałych 57.1% przypadków T13 wykazałem współistnienie więcej niż jednego z dodatnich markerów. Wady serca występowały u 41.1% badanych płodów z PS, z czego najczęstsze były wady lewego serca (19.6%). Ocena anatomii pozasercowej ujawniła wady strukturalne u 53.6% płodów, w tym mnogie anomalie w dwudziestu jeden procentach przypadków. Pod względem częstości występowania najczęściej wykazałem w tej grupie anomalii: wady CSN (26.8%), wady jamy brzusznej (21.4%), wady kończyn (9.5%), wady twarzoczaszki (7.9%) oraz wady układu moczowego (7.1%).

W opracowanym modelu regresji logistycznej, w oparciu o najczęstsze cechy ultrasonograficzne wykazane u płodów z T13 podczas badania ultrasonograficznego późnego pierwszego trymestru, uzyskałem następujące wyniki: opóźnione kostnienie nosa (OR= 6.3), grubość NT powyżej 3 mm (OR= 36.5), obecność wady ośrodkowego układu nerwowego (OR= 205.4), obecność wady jamy brzusznej (OR= 24.3), obecność wady lewego serca

(OR= 18.2) oraz obecność nieprawidłowego profilu przepływu w przewodzie żylnym z ujemną falą a (OR= 3.1).

W Publikacji 2 wykazałem, że czułość testu złożonego jest wyższa niż NT+ dla wszystkich analizowanych punktów odcięcia: 1/50 (odpowiednio 88.5 vs 63.3%), 1/100 (odpowiednio 88.5 vs 70.0%) i 1/300 (odpowiednio 92.3 vs 83.3%).

Analizując wydolność skринingową testu NT+, w zależności od wieku ciężarnej (Publikacja 1), stwierdzam że jest ona niedostateczna u młodszych ciężarnych. W zakresach wieku ciężarnych: między 26 a 30 lat oraz między 31 a 35 lat, model „NT + T13” z punktem odcięcia 1/300 wykazał czułość 61.5% i 75.0% przy FPR odpowiednio 1% i 0.8%.

W Publikacji 2 zaobserwowałem, podobną jak w Publikacji 1, zależność dla grupy badanej w ramieniu “USG”, natomiast w ramieniu “CSG”- nie wykazałem istotnego wpływu wieku ciężarnej na parametry wydolności skринingowej testu.

Podsumowując, wyniki testu skринingowego opartego wyłącznie na wieloparametrowym badaniu ultrasonograficznym w skринingu w kierunku T13 okazały się obiecujące u pacjentek w wieku powyżej 36 lat oraz niedostateczne u ciężarnych w wieku między 26 a 36 lat. Test złożony okazał się być skuteczniejszy w wykrywaniu T13 niż wieloparametrowy test ultrasonograficzny.

Podczas badania skринingowego w kierunku T13 szczególną uwagę należy zwrócić na występowanie kombinacji wad lewego serca, wad CSN, jamy brzusznej, grubości NT powyżej 95. percentyla, częstości rytmu serca powyżej 95. percentyla, profilu przepływu z ujemną falą a w DV i opóźnionego kostnienia nosa.

Streszczenie dysertacji w języku angielskim - PhD Thesis summary in English.

‘Capabilities and limitations of late first-trimester screening for Trisomy 13’

by Bartosz Rajs.

Introduction

Trisomy 13 (T13) is the third most common autosomal trisomy. It is also known as the Patau Syndrome (PS). The incidence of PS is 1 in 5000–20.000 live births. Considering the data described in the literature it can be concluded that T13 has the lowest detection rates among major trisomies based on various screening policies. First-trimester screening for T13 according to the recommended combined screening test (CST) consisting of NT (nuchal translucency) thickness on ultrasound and levels of serum biomarkers showed detection rates (DRs) of 75 - 90%. The use of biomarkers in maternal serum as a screening tool for T13 seems to be less efficient than for other aneuploidies, such as trisomy 21 (T21) and trisomy 18 (T18). Additionally, more and more popular non-invasive prenatal testing (NIPT) based on cell-free DNA sequencing (cffDNA) from maternal plasma, which showed in screening for T21 DR above 99% at false-positive rate (FPR) of 1%, in case of T13 screening presents significantly lower screening performance results- DRs of 80–91% with false positive rate (FPR) of 1%.

In Poland, due to the inclusion criteria to the refunded prenatal screening programme, a significant number of patients undergo ultrasound-only screening in the first trimester.

Aims of the study

The main goal of the study was to analyze the performance of an ultrasound-only protocol to detect trisomy 13 in the late first-trimester screening.

In Publication 1, screening results of multi-parameter ultrasound protocol along with detailed assessment of the entire early fetal anatomy were analyzed. On this basis: the efficacy of ultrasound-only methodology in detecting T13 was explored; the most common ultrasound patterns of markers and anomalies associated with PS were identified; a logistic regression model determining the odds ratios (ORs) of the most common features of T13 was developed.

In Publication 2, the performance of a multi-parameter ultrasound protocol and screening based on a traditional CST were compared. Additionally, in both studies, the influence of the maternal age (MA) on screening performance was analyzed.

Materials and methods

The efficiency of screening for T13 in a population of pregnant women referred for the first trimester screening was analyzed. Patients were enrolled according to the following inclusion criteria: singleton pregnancy, crown-rump length (CRL) measurement of 45 – 84 mm and known pregnancy outcome. In our studies, an alternative methodology based on a multiparameter ultrasound-only protocol was utilized in the late first trimester screening for T13. We called it the "NT+" protocol for the purposes of the study. In addition to the nuchal translucency and the fetal heart rate (FHR), this protocol included secondary ultrasound markers such as: nasal bone (NB), tricuspid flow (TF), ductus venosus (DV) velocimetry, and major anomaly findings included in the FMF risk calculation algorithm (holoprosencephaly, atrioventricular septal defect, omphalocele, diaphragmatic hernia, and megacystis) without using the levels of serum biochemical markers.

The study group in Publication 1 (*First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester. Journal of Perinatal Medicine, De Gruyter, Germany*) comprised 5,901 cases, including fifty-six T13 cases. The study protocol consisted of NT+ screening and a complete evaluation of the fetal anatomy. The sonographic markers of chromosomal aberrations (NT, NB, TF, DV) were checked in accordance with FMF recommendations. Detailed analysis of the fetal anatomy included all structural anomalies, including those not affecting the risk of the most common trisomies.

In Publication 2 (*Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Taylor & Francis Group, United Kingdom*), the classic CST was applied to patients enrolled to the "Combined Screening Group" (CSG), while patients in the "Ultrasound Screening Group" (USG) were examined with the use of the NT+ protocol. In the USG arm, the study group consisted of 7,954 patients, including thirty T13 cases, and in the CSG arm - 12,906 patients, including twenty-seven fetuses with T13.

The risk calculations for major trisomies were made with the use of FMF 2.8.0_3 algorithm software (Astraia GmbH, Munich, Germany).

Results and conclusions

The best general DRs of the "NT+ T13" algorithm were demonstrated with the use of 1/300 cut-off point. Utilizing this test, DR of 78.6% with FPR of 1.2% in Publication 1 and DR of 83.3% with FPR of 1.8% in Publication 2 were obtained.

In Publication 1 core coincidences of ultrasound markers found in fetuses with T13 were described. Regarding the presentation of the ultrasound markers, at least one marker was observed in 75% of fetuses with T13 compared to 19.3% of fetuses with normal karyotypes. Isolated ultrasound markers were identified in 17.9% of these fetuses. Only the remaining 57.1% of T13 cases presented with more than one positive marker concomitantly. Congenital heart diseases were observed in 41.1% cases of T13, of which the largest fraction were left heart defects (19.6%). Extracardiac malformations were identified in 53.6% cases of T13 and 21% of these cases presented multiple anomalies. The most common anomalies in this group affected: central nervous system (26.8%), abdominal organs (21.4%), limbs (9.5%), craniofacial area (7.9%), and urinary tract (7.1%).

A logistic regression model was developed based on the most common ultrasound findings in T13. The following parameters were obtained: lack of NB (OR= 6.3), NT \geq 3 mm (OR= 36.5), central nervous system anomalies (OR= 205.4), abdominal anomalies (OR= 24.3), left heart defects (OR= 18.2), and the presence of reverse a-wave in ductus venosus flow (revDV) (OR= 3.1).

In Publication 2, the DR of the combined screening test proved to be higher than the DR of NT+ test for all utilized cut-off points: 1/50 (88.5 vs 63.3%, respectively), 1/100 (88.5 vs 70.0%, respectively) and 1/300 (92.3 vs 83.3%, respectively).

Taking into account DRs depending on the maternal age subgroups, the obtained DR figures were rather suboptimal. This was the case mainly in younger patients. In the MA ranges of 26-30 and 31-35 years, the NT+ model with 1/300 cut-off point showed DRs only of 61.5% and 75%, respectively, with an FPR of 1% and 0.8%, respectively. In Publication 2, a similar observation as in Publication 1 was found for the "USG" arm of the study, while in the "CSG" arm - the maternal age did not seem to have such a significant impact on the DR.

In conclusion, the effectiveness of the multiparameter sonographic protocol used for T13 screening showed promising results in patients older than 36 years and suboptimal results in patients between 26 and 36 years old. The combined screening test was found to be more effective in detecting T13 than the multiparameter ultrasound-only protocol.

When first trimester screening for T13 is considered, left heart defects, CNS anomalies, abdominal anomalies, increased FHR above the 95th percentile, thickened NT above the 95th percentile, reversed a-wave in DV velocimetry, and delayed NB ossification should receive specific attention.

Bibliografia

- [1] Tonks AM, Gornall AS, Larkins SA, et al. Trisomies 18 and 13: trends in prevalence and prenatal diagnosis – population based study. *Prenat Diagn.* 2013;33:742–750.
- [2] Chen CP. Prenatal sonographic features of fetuses in trisomy 13 pregnancies (III). *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2009;48:342–349.
- [3] Thomas Bartholinus: *Historiarum anatomicarum rariorum centuria III et IV. Ujusdem cura accessare observationes anatomicae.* Petri Pavi Hafniae. Sumtibus Petri Haubold Bibl, 1656, p.95.
- [4] Patau K, Therman DG, Cameron AH, Wolff OH. A new trisomic syndrome. *Lancet* 1969; i: 787-9.
- [5] Culic V, Polic B, Miskovic S, et al. Patau syndrome. *Paediatr Croat.* 2016;60:27–30.
- [6] https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat_en EUROCAT Guide 1.4: Instruction for the registration of congenital anomalies. EUROCAT Central Registry, University of Ulster, Northern Ireland 2013.
- [7] Duque Julio Alejandro Peña et al. The natural history of pregnancies with prenatal diagnosis of Trisomy 18 or Trisomy 13: Retrospective cases of a 23-year experience in a Brazilian public hospital. *Genet. Mol. Biol.* 2019, vol.42, n.1, suppl.1, pp.286-296.
- [8] Rasmussen, S. A., Wong, L. Y., Yang, Q., May, K. M. & Friedman, J. M. Population-based analyses of mortality in trisomy 13 and trisomy 18. *Pediatrics* 203;111,777–784.
- [9] Schinzel A. *Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberration in Man.* 2nd Ed, Walter de Gruyter, Berlin, New York 2001;505-10.
- [10] Watson, W.J., Miller, R.C., Wax, J.R., Hansen, W.F., Yamamura, Y. and Polzin, W.J. Sonographic Detection of Trisomy 13 in the First and Second Trimesters of Pregnancy. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 2007;26:1209-1214.
- [11] Kroes I, Janssens S, Defoort P. Ultrasound features in trisomy 13 (Patau syndrome) and trisomy 18 (Edwards syndrome) in a consecutive series of 47 cases. *Facts Views Vis Obgyn.* 2014;6:245–249.
- [12] Papp C, Beke A, Ban Z, et al. Prenatal diagnosis of trisomy 13: analysis of 28 cases. *J Ultrasound Med* 2006; 25:429–35.
- [13] Szigeti Z, Csapo Z, Jo ! o JG, et al. Correlation of prenatal ultrasound diagnosis and pathologic findings in fetuses with trisomy 13. *Prenat Diagn.* 2006;26:1262–1266.
- [14] Snijders RJ, Sebire NJ, Souka A, et al. Fetal exomphalos and chromosomal defects: relationship to maternal age and gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;6:250–255.
- [15] Papageorgiou, A.T.; Avgidou, K.; Spencer, K.; Nix, B.; Nicolaides, K.H. Sonographic screening for trisomy 13 at 11 to 13(+6) weeks of gestation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006;194,397–401.
- [16] Witters G, Van Robays J, Willekes C, Coumans A, Peeters H, Gyselaers W, Fryns JP. Trisomy 13, 18, 21, triploidy and Turner syndrome: the 5T's. Look at the hands. *Facts Views Vis Obgyn.* 2011;3:15–21.
- [17] M Pawelec, M Dżugalik, J Pietras, Belza Ł, Latkowski Ł Medical and Ethical Considerations Related to Viable Fetuses with Trisomy 13 in the 36th Week of Pregnancy– a Review of the Literature. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2015;24:911-921.
- [18] Spencer K, Ong C, Skentou H, et al. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn.* 2000;20:411–416.

- [19] Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. Detection of trisomy 18 and trisomy 13 using first and second trimester Down's syndrome screening markers. *J Med Screen*. 2013;20:57–65.
- [20] Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31:7–15.
- [21] Ashoor G, Syngelaki A, Wang E, et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41:21–25.
- [22] Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:249–266.
- [23] Everett TR, Chitty LS. Cell-free fetal DNA: the new tool in fetal medicine. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015; 45:499–507.
- [24] Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:530–538.
- [25] Borowski D, Pietryga M, Basta P, Cnota W, Czuba B, Dubiel M, Fuchs T, Huras H, Iciek R, Jaczyńska R, Kaczmarek P, Kosiński P, Kwiatkowski S, Nocun A, Pomorska Mi, Ropacka-Lesiak M, Rybak-Krzyszowska M, Sieroszewski P, Węgrzyn P, Wiecheć M, Wielgoś M, Zimmer M. Rekomendacje Sekcji Ultrasonografii Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników w zakresie przesiewowej diagnostyki ultrasonograficznej w ciąży o przebiegu prawidłowym–2020 rok. *Ginekologia i Perinatologia Praktyczna* 2020;5:63-75.
- [26] <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ludnosc/ludnosc/urodzenia-i-dzielnosc,34,1.html>
- [27] Salomon LJ, Sotiriadis A, Wulff CB, Odibo A, Akolekar R. Risk of Miscarriage Following Amniocentesis or Chorionic Villus Sampling: Systematic Review of Literature and Updated MetaAnalysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019;54:442–445.
- [28] Wiecheć M, Knafel A, Nocun A, Matyszkiewicz A, Juszczak M, Wiercinska E, et al. How Effective Is First-Trimester Screening for Trisomy 21 Based on Ultrasound Only? *Fetal Diagn Ther*. 2016;39:105–112.
- [29] Wiecheć M, Anna K, Nocun A, Matyszkiewicz A, Wiercinska E, Latała E. How effective is ultrasound-based screening for trisomy 18 without the addition of biochemistry at the time of late first trimester?. *J Perinat Med*. 2016 Mar;44:149-159.
- [30] Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Brit Med J* 1992;304: 867-869.
- [31] Tul N, Spencer K, Noble P, Chan C, Nicolaides K. Screening for trisomy 18 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta -hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn*. 1999;19:1035–1042.
- [32] Herman A, Maymon R, Dreazen F, Caspi F, Bukovsky I, Weinraub Z. Nuchal translucency audit: a novel image-scoring method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:398-403.
- [33] Nuchal Translucency and Quality Review <https://www.ntqr.org/>
- [34] Molina F, Avgidou K, Kagan KO, Poggi S, Nicolaides KH. Cystic Hygromas, Nuchal Edema, and Nuchal Translucency at 11-14 Weeks of gestation. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 678-683.
- [35] Hyett JA, Noble PL, Snijders RJ, Montenegro N, Nicolaides KH. Fetal heart rate in trisomy 21 and other chromosomal abnormalities at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1996;7:239-244.
- [36] Liao AW, Snijders R, Geerts L, et al. Fetal heart rate in chromosomally abnormal fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;16:610–613.
- [37] Kagan KO, Wright D, Valencia C, et al. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated

plasma protein-A. Hum Reprod. 2008;23:1968–1975.

[38] Wagner, P., Sonek, J., Hoopmann, M., Abele, H. and Kagan, K.O. First-trimester screening for trisomies 18 and 13, triploidy and Turner syndrome by detailed early anomaly scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2016;48: 446–451.

[39] Cicero S, Longo D, Rembouskos G, et al. Absent nasal bone at 11–14 weeks of gestation and chromosomal defects. Ultrasound Obstet Gynecol. 2003;22:31–35.

[40] Springhall, E.A., Rolnik, D.L., Reddy, M., Ganesan, S., Maxfield, M., Ramkrishna, J., Meagher, S., Teoh, M. and da Silva Costa, F. How to perform a sonographic morphological assessment of the fetus at 11–14 weeks of gestation. Australasian Journal of Ultrasound in Medicine. 2018;21:125-137.

Spis Tabel

Tabela 1. Porównanie wydolności skringowej metod zaproponowanych ujętych w Publikacji 1. T13 = trisomia 13, T18 = trisomia 18, T21 = trisomia 21, PPV = dodatnia wartość predykcyjna, NPV = ujemna wartość predykcyjna.

Spis Rycin

[Rycina 1] Serce jednokomorowe z pojedynczą drogą odpływu i pojedynczym pniem tętniczym wykazującym dwukierunkowy przepływ (płód z potwierdzoną trisomią 13, gdzie doszło do zatrzymania krążenia po 3 dniach od badania). 4CV= projekcja czterojamowa; 3VTV= projekcja trzech naczyń z tchawicą; PWD= Doppler pulsacyjny. Przypadek z grupy badanej.

[Rycina 2] Obraz prawidłowej osi serca płodu (lewa strona euploidia) vs obraz mezokardii (strona prawa-trisomia13). Obrazy pochodzą z analizy grupy badanej.

[Rycina 3] Obraz podniebienia płodu w badaniu późnego pierwszego trymestru. Po lewej obraz prawidłowy, po prawej widoczny obustronny rozszczep podniebienia (płód z potwierdzonym PS). Obrazy pochodzą z analizy grupy badanej.

[Rycina 4] Wady stwierdzone u płodów z T13, obrazy uzyskane podczas badania I trymestru. PO= olbrzymi pęcherz moczowy; PP= przepuklina pępowinowa; RWP= rozszczep wargi i podniebienia; PD= polidaktylia; HPE= holoprozencefalia. Obrazy ultrasonograficzne na podstawie przypadków z grupy badanej.

[Rycina 5] Przezierność karkowa. Od lewej- obraz prawidłowy; środek- płód z trisomią 13 z pogrubiałą przeziernością karkową; prawo- płód z trisomią 13 z prawidłową przeziernością karkową, jednak z rozszczepem wargi i podniebienia. Obrazy ultrasonograficzne na podstawie grupy badanej.

[Rycina 6] Rozkład częstości rytmu serca płodu (FHR) w odniesieniu do długości ciemieniowo-siedzeniowej (CRL) u płodów z euploidią (niebieskie punkty) oraz z trisomią 13 (czerwone punkty) na podstawie prowadzonych przeze mnie badań. Zwraca uwagę tendencja do tachykardii u płodów z T13.

[Rycina 7] Krążeniowe zmiany czynnościowe u płodów z T13: niedomykalność zastawki trójdzielnej (TR) oraz ujemna fala a w fali tętna z przewodu żylnego (revDV).

[Rycina 8] Wydolność skriningowa testu wieloparametrowego (NT+ T13) w zależności od wieku ciężarnej. DR= detection rate; FPR= false positive rate.

[Rycina 9] Wydolność skriningowa testu złożonego w zależności od wieku ciężarnej. DR= detection rate; FPR= false positive rate; CST= combined screening test.

Obrazy ultrasonograficzne zawarte w dysertacji pochodzą z materiału badanego.

Załączniki

Publikacja 1

Publikacja 2

Oświadczenia współautorów Publikacji 1

Oświadczenia współautorów Publikacji 2

Bartosz Rajs, Agnieszka Nocuń, Anna Matyszkiewicz, Marcin Pasternok, Michał Kołodziejski, Ewa Wiercińska and Marcin Wiecheć*

First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester

<https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0383>

Received May 14, 2020; accepted September 19, 2020;

published online October 19, 2020

Abstract

Objectives: To identify the most common ultrasound patterns of markers and anomalies associated with Patau syndrome (PS), to explore the efficacy of multiparameter sonographic protocols in detecting trisomy 13 (T13) and to analyze the influence of maternal age (MA) on screening performance. **Methods:** The project was a prospective study based on singleton pregnancies referred for a first-trimester screening examination. The scan protocol included nuchal translucency (NT), fetal heart rate (FHR), secondary ultrasound markers [nasal bone (NB), tricuspid regurgitation (TR), ductus venosus reversed a-wave (revDV)] and major anomaly findings. **Results:** The study population comprised 6133 pregnancies: 6077 cases of euploidy and 56 cases of T13. Statistically significant differences were found in MA, FHR, NT, absence of NB, presence

of revDV, TR and single umbilical artery. Fourteen cases of T13 (25%) demonstrated no markers of aneuploidy. The best general detection rate (DR) (DR of 78.6% with an false positive rate (FPR) of 1.2%) was obtained for a cutoff of 1/300 utilizing the “NT+T13” algorithm. The logistic regression model revealed that the central nervous system (CNS) anomalies had the greatest odds ratio (of 205.4) for T13. **Conclusions:** The effectiveness of the multiparameter sonographic protocol used for T13 screening showed promising results in patients older than 36 years and suboptimal results in patients between 26 and 36 years old. When screening for T13 left heart defects, CNS anomalies, abdominal anomalies, FHR above the 95th percentile, increased NT, revDV and lack of NB should receive specific attention.

Keywords: first-trimester; first trimester screening; mesocardia; patau syndrome; trisomy 13.

Introduction

Trisomy 13 (T13), also known as Patau syndrome (PS), is the third most common autosomal trisomy following trisomies 21 (T21) and 18 (T18) [1]. The incidence of PS is 1 in 5000–20,000 live births [2]. According to data collected by EUROCAT (European surveillance of congenital anomalies), the T13 prevalence slowly increased from 2.0/10,000 in 2011 to above 2.5/10,000 in 2017 [3].

T13 is associated with numerous congenital anomalies, including central nervous system (CNS) defects, cleft lip and palate, other craniofacial, limb and cardiac defects, and is characterized by a high intrauterine fetal mortality rate of 46% [1, 4, 5].

Considering the data described in the literature regarding the different methods of T13 screening, the

*Corresponding author: Marcin Wiecheć MD, PhD, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Jagiellonian University Medical College, 23 Kopernik Street, 31-501 Krakow, Poland; and Ultrasound Group Practice “MWU DOBREUSG”, Krakow, Poland, Phone: +48 12 4248423, E-mail: marcin.wiechec@uj.edu.pl, <https://orcid.org/0000-0003-0656-6614>

Bartosz Rajs and Michał Kołodziejski, Department of Gynecology and Obstetrics, Jagiellonian University in Krakow, Krakow, Poland. <https://orcid.org/0000-0002-0363-6966> (B. Rajs)

Agnieszka Nocuń, Ultrasound Group Practice “MWU DOBREUSG”, Krakow, Poland. <https://orcid.org/0000-0002-6934-6304>

Anna Matyszkiewicz, Department of Gynecology and Obstetrics, Jagiellonian University in Krakow, Krakow, Poland; and Ultrasound Group Practice “MWU DOBREUSG”, Krakow, Poland

Marcin Pasternok, Center for Prenatal Diagnostics, Opole, Poland
Ewa Wiercińska, Voivodship Sanitary-Epidemiological Station in Krakow, Krakow, Poland

conclusion is that T13 generally presents a lower detection rate (DR) than other major trisomies. First-trimester screening for T13 based on the combined screening test (CST) shows DRs of 75–92.3% [6–8], whereas for T21, obtainable published DRs were between 90 and 95% [9–11]. One of the latest larger studies, conducted by the Danish Fetal Medicine Study Group, reported a DR of 80% by using CST in screening for T13 [12]. In contrast, Santorum et al. obtained higher DRs for T13 than for T21, 92 vs 90%, respectively, at 4% false positive rate (FPR), in a large study focused on the accuracy of first trimester CST in screening for major trisomies [13]. These reports demonstrate inconsistent results among various studies in the context of screening for T13. Noninvasive prenatal screening (NIPT) for T13 showed DRs of 80–91% with FPR below 1% compared to a DR above 99% with an FPR of below 1% for T21 [14–15].

After conducting our first study comparing the effectiveness of multiparameter ultrasound-only protocols with that of CST in detecting T13, we decided to conduct another series on a larger number of cases focused on the most common T13-related sonographic findings and the screening performance of a multiparameter ultrasound-only protocol [8]. Other studies in this area presented different methodology or were not focused specifically on T13 [16, 17]. Therefore, we decided to conduct this second T13 study.

The first aim was to identify the most common ultrasound patterns of markers and anomalies associated with PS in our population and to develop a logistic regression model determining the odds ratios of these markers. The second aim was to explore the efficacy of multiparameter ultrasound-only methodology in detecting T13 using protocols based on background risk and all available ultrasound parameters of the FMF algorithm without adding biomarkers. Our previous papers on screening for T21 and T18 showed surprisingly high screening performance of this methodology, which we called “NT+” and decided to use this term also for the purposes of this study [18, 19]. The major difference in “NT+” is that the individual risk figure is obtained by correcting risk figures based on background risk, nuchal translucency (NT) and fetal heart rate (FHR) by secondary ultrasound markers such as nasal bone (NB), tricuspid flow (TF), ductus venosus (DV) velocimetry and major anomaly findings included in the FMF risk calculation algorithm (holoprosencephaly, atrioventricular septal defect, omphalocele, diaphragmatic hernia, and megacystis) without using the levels of serum biochemical markers [6]. The third aim was to analyze

the influence of maternal age (MA) on screening performance by using the methodology proposed by us.

Materials and methods

This was a prospective study based on singleton pregnancies examined at 11+0 to 13+6 weeks at our institution. The study group consisted of low-risk patients (5901) and a considerable number of high-risk cases (758), including subjects presenting suspicious ultrasound findings on initial scan performed by antenatal care services not qualified for first-trimester screening (306) and those with an MA above 35 years (452). Karyotyping results and postnatal evaluation findings were recorded in the database as soon as they were available. Patients examined between January 2016 and September 2018 were included. The sonography reports and the digital data were reviewed taking into account the following inclusion criteria: singleton pregnancy, crown-rump length (CRL) measurement of 45–84 mm and known pregnancy outcome. The patient's body mass index (BMI) was measured immediately before the first trimester ultrasound scan. Cases of aneuploidies other than trisomy 13 were excluded from the study. Professionals qualified to obtain the complete set of sonographic markers based on the Fetal Medicine Foundation (FMF) certification and who could conduct early fetal cardiac scan studies were involved in data collection. All examiners had more than 10 years of experience in first-trimester aneuploidy screening, early anomaly screening and early fetal echocardiography. Almost all scans were performed with a transabdominal approach applying the Voluson E6 ultrasound scanner (GE Healthcare, Zipf, Austria) and WS80 Elite (Samsung, Seoul, Korea). In only 3.9% of cases, a transvaginal probe was applied for better visualization of fetal anatomy. The scan protocol comprised the entire early extracardiac fetal anatomy, accompanied by fetal cardiac evaluation based on the following parameters: visceral situs, four-chamber view (4CV), outflow tracts, three-vessel and trachea view (3VTV) in B-mode and color mapping, which is in line with the protocol described by Springhall et al. [20]. The sonographic markers of chromosomal aberrations (NT, NB, TF, DV) were checked in accordance with FMF recommendations. For the purpose of this study NT and FHR were recognized as primary ultrasound markers of aneuploidy; and nasal bone, tricuspid flow, ductus venosus velocimetry, and number of umbilical arteries as secondary markers. DV was evaluated by a quantitative method (pulsatility index=PI), and the abnormal profiles of reversed a-wave (revDV) or absent DV were also recorded. The term “major anomalies” was applied to five major structural abnormalities included in the FMF risk calculation model: atrioventricular septal defect (AVSD), holoprosencephaly (HPE), megacystis (MC), congenital diaphragmatic hernia (CDH), and omphalocele (OMPH). Other structural findings were also reported in our detailed analysis of extracardiac and cardiac fetal anatomy assessment. The risk calculations for major trisomies were made with the use of FMF 2.8.0_3 algorithm software (Astraia GmbH, Munich, Germany). In order to validate the efficacy of ultrasound-only approach in detecting T13 screening tests as shown in Table 1 were applied. The study findings were used for research purposes only and did not influence management, which is based on CST according to local screening policy [21]. All subjects who continued pregnancy

Table 1: Screening tests used in the study.

Screening test	Parameters used in the protocol	Positive if,
T13 NT+ with cut offs 1/50, 1/100, and 1/300	MA, NT, FHR, NB, DV, TR, and major anomalies*	Individual risk for T13 is higher than the cut off value
T21 NT+ with cut offs 1/50, 1/100, and 1/300	MA, NT, FHR, NB, DV, TR, and major anomalies*	Individual risk for T21 is higher than the cut off value
T18 NT+ with cut offs 1/50, 1/100, and 1/300	MA, NT, FHR, NB, DV, TR, and major anomalies*	Individual risk for T18 is higher than the cut off value

*major anomalies, five major anomalies included in FMF risk calculation (atrioventricular septal defect, AVSD; holoprosencephaly, HPE; megacystis, MC; congenital diaphragmatic hernia, CDH; and omphalocele, OMPH). NT, nuchal translucency above the 95th percentile; TR, tricuspid regurgitation; NB, negative nasal bone; DV, ductus venosus pulsatility index; MA, maternal age; FHR, fetal heart rate above the 95th percentile.

underwent anomaly scans between 18 and 21 weeks according to the protocol published by Bethune M et al., which included fetal cardiac assessment [22]. The outcome data were collected from medical records and included karyotyping, 18–21 and 28–32 weeks sonography, autopsy and neonatal findings. The local Ethics Committee approved the study protocol, and all subjects provided written consent.

Statistical analysis

In the statistical data assessment, the Kolmogorov-Smirnov test was applied to assess continuous variable distribution. The χ^2 -test was used to demonstrate the differences. Groups of independent variables were compared using Student's t-test. Nonparametric tests were also utilized. SPSS Statistics v.17 (IBM Co., New York, USA) software was applied in this study. The findings with $p < 0.05$ were considered significant. Based on the most common ultrasound findings presenting $OR > 1$ in T13, a logistic regression model was developed.

Results

Study population

A screening ultrasound was carried out in 6659 singleton pregnancies. Fetal karyotyping was performed in 6.2% of subjects from chorionic villus sampling (123) and amniotic fluid samples (243 cases). The rest of the subjects were assumed to be euploid based on normal postnatal evaluation. Five hundred twenty-six (7.9%) cases were excluded from further analysis because in 391 (5.9%) cases, it was impossible to establish the fetal karyotype due to loss to follow-up, 32 (0.5%) cases resulted in miscarriages not related to invasive testing and 16 (0.2%)

resulted in intrauterine fetal demise (IUFD) without subsequent karyotyping. In 87 (1.3%) cases, there was a chromosomal abnormality other than trisomy 13. Therefore, our study population comprised 6133 pregnancies: 6,077 with a normal karyotype or delivery of a neonate presenting no features of chromosomal aberrations (euploid group) and 56 cases of trisomy 13. One live birth at 37th weeks of gestation was noted. In this case, after first-trimester screening, PS was confirmed with amniotic fluid sampling in early second trimester, nonetheless, the patient decided to continue the pregnancy. The characteristics of the study population are summarized in Figure 1 and Table 2. The median maternal BMI was 22.6 kg/m² (range 17.7–34.9). All women participating in this study were Caucasian.

Euploid and T13 fetal characteristics

The mean NT thickness in the euploidy subgroup was 1.7 mm (range 0.8–4.9 mm), and in the T13 subgroup, it was 4.1 mm (range 1.3–11.5 mm) ($p < 0.000$). The mean MA in the euploid group was 30.6 years (range 16–46 years) compared to 32.7 years (range 17–42 years) in the trisomy 13 group ($p = 0.001$). The mean CRL at the time of examination was 63.5 mm in the euploid group vs. 63.1 mm in the T13 group. The mean FHR was 160.2 bpm in euploidy (range 109–190 bpm) vs 170 bpm in the T13 group (range 148–201 bpm), ($p < 0.000$). FHR above the 95th percentile was noted in 735 cases in the euploidy group (12.1%) and in 35 cases in the T13 group (62.5%). No statistically significant differences were found between the euploidy and trisomy 13 groups in terms of CRL, but all other basic parameters disclosed statistical significance (Table 3).

NT thickness above the 95th percentile was observed in 237 euploid fetuses (3.9%) and in 19 fetuses (33.9%) affected by trisomy 13 ($p = 0.000$). By using the χ^2 Pearson test, significant differences were found between the

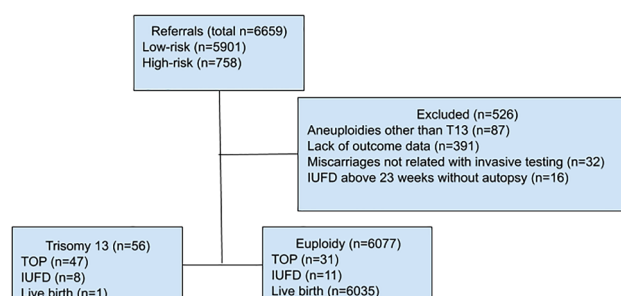


Figure 1: Study population diagram. T13 = trisomy 13, IUFD = intrauterine fetal demise, TOP = termination of pregnancy.

Table 2: Presentation of trisomy 13 fetuses.

Case #	MA	Anomalies detected during first trimester scan			Anomalies detected during second trimester scan	Week of TOP or delivery	Additional autopsy or postnatal findings
1	36	TR+SUA	face/neck anomalies	Left heart defects/mesocardia	–	TOP 16	–
2	27	NB+revDV+FHR	Abdominal anomalies/CNS anomalies	Conotruncal anomalies	–	TOP 16	–
3	30	NT+NB+TR+revDV+SUA	Abdominal anomalies/CNS anomalies	Left heart defects	–	TOP 18	–
4	34	NT+NB+TR+revDV+FHR	Abdominal anomalies	Left heart defects	–	TOP 17	–
5	25	NT+NB+TR+FHR	–	Left heart defects	–	IUFD 14	–
6	36	NT+NB+FHR	–	Conotruncal anomalies/rare anomalies	–	TOP 18	–
7	30	No markers	face/neck anomalies	Left heart defects	–	TOP 19	–
8	33	revDV+FHR	face/neck anomalies	Left heart defects	Polydactyly, micrognathia, microphthalmia	Live birth 37th week	Low-set ears, missing skin
9	32	No markers	Abdominal anomalies/CNS anomalies	Left heart defects	–	TOP 17	–
10	32	FHR	–	Left heart defects	–	TOP 17	–
11	42	No markers	Urinary tract anomalies	Left heart defects	–	IUFD 14	–
12	33	No markers	CNS anomalies	Left heart defects	–	TOP 16	–
13	20	NT+noDV+FHR	CNS anomalies/urinary tract anomalies	Conotruncal anomalies	Polydactyly	TOP 20	–
14	42	NT+FHR	Abdominal anomalies	Conotruncal anomalies	–	TOP 18	–
15	35	No markers	Abdominal anomalies/CNS anomalies	Conotruncal anomalies	–	TOP 16	–
16	33	NT+revDV+FHR	Abdominal anomalies/CNS anomalies	Conotruncal anomalies	–	TOP 17	–
17	41	NT+revDV+FHR	–	Conotruncal anomalies/rare anomalies	VSD, fetal growth restriction	IUFD 29	Scalp defects
18	40	NT+revDV+FHR	CNS anomalies	Septal defects	–	TOP 16	–
19	40	NT+FHR	–	Septal defects	–	TOP 17	–
20	32	FHR	Upper and lower limbs/CNS anomalies	Left heart defects/mesocardia	–	TOP 16	–
21	36	TR+DV+FHR	–	Septal defects	–	TOP 16	–
22	40	No markers	–	Septal defects/mesocardia	–	TOP 18	–
23	41	revDV	Abdominal anomalies/upper and lower limbs	Septal defects	–	IUFD 14	–
24	36	NB+TR+revDV+FHR	CNS anomalies	–	–	TOP 16	–
25	40	TR+SUA+FHR	Urinary tract anomalies	–	–	TOP 16	–
26	29	NT+NB+FHR	Upper and lower limbs	–	Polydactyly, VSD, microcephaly	IUFD 30	Close-set eyes
27	32	FHR	Upper and lower limbs	–	–	TOP 16	–
28	35	No markers	CNS anomalies	–	–	TOP 17	–
29	37	NB+TR+FHR	face/neck anomalies	–	–	TOP 17	–

Table 2: (continued)

Case #	MA	Anomalies detected during first trimester scan			Anomalies detected during second trimester scan	Week of TOP or delivery	Additional autopsy or postnatal findings
30	26	NT+NB+TR+revDV+FHR	CNS anomalies	–	–	TOP 16	–
31	27	NB+FHR	CNS anomalies	–	–	TOP 16	–
32	29	NT+SUA+FHR	face/neck anomalies	–	–	TOP 17	–
33	33	FHR	CNS anomalies/urinary tract anomalies	Mesocardia	–	TOP 17	–
34	36	NT	Abdominal anomalies	–	–	TOP 19	–
35	27	NT+NB+TR+revDV+FHR	Abdominal anomalies/CNS anomalies	–	–	TOP 15	–
36	33	No markers	Abdominal anomalies/upper and lower limbs	Mesocardia	–	TOP 16	–
37	39	No markers	Abdominal anomalies/upper and lower limbs	–	–	TOP 18	–
38	28	NB+revDV+FHR	–	–	–	TOP 17	–
39	27	No markers	–	–	–	TOP 17	–
40	32	FHR	–	–	–	TOP 17	–
41	39	No markers	–	–	Cleft lip	TOP 20	–
42	28	NT+FHR	–	–	–	TOP 18	–
43	38	NT+SUA	–	–	VSD, coarctation of aorta	IUFD 27	Polydactyly
44	38	No markers	–	–	–	TOP 17	–
45	25	FHR	–	–	–	TOP 17	–
46	33	NT+NB+TR+FHR	–	Mesocardia	–	TOP 19	–
47	22	No markers	–	–	–	TOP 17	–
48	24	revDV	–	–	–	TOP 16	–
49	17	noDV+FHR	–	–	–	TOP 16	–
50	30	FHR	–	–	–	TOP 19	–
51	23	No markers	–	–	–	IUFD 18	–
52	35	TR+revDV+SUA+FHR	–	–	–	TOP 18	–
53	39	TR+revDV+SUA+FHR	–	–	–	TOP 15	–
54	41	NB+TR+SUA	–	–	Polydactyly, VSD, cleft lip	IUFD 25	Missing skin
55	30	NB+TR+SUA+FHR	–	–	–	TOP 16	–
56	39	NT+FHR	–	–	–	TOP 16	–

NT, nuchal translucency above the 95th percentile; TR, tricuspid regurgitation; NB, negative nasal bone; revDV, reversed a wave in ductus venosus flow; noDV, absent ductus venosus; SUA, single umbilical artery, FHR, fetal heart rate above the 95th percentile; CNS, central nervous system; VSD, ventricular septal defect; MA, maternal age.

euploidy and T13 groups in the absence of NB ($p=0.000$), 85 cases (1.4%) vs 15 (26.8%); presence of tricuspid regurgitation (TR) ($p=0.000$), 92 cases (1.5%) vs 15 (26.8%); reverse a-wave in DV (revDV) flow ($p=0.000$), 108 cases (1.8%) vs 16 (28.6%); and the presence of single umbilical artery (SUA) ($p=0.000$), 4 cases (0.07%) vs 9 cases (16.1%). The mean DV PI in the T13 group was 1.2 (range 0.8–1.6) vs 0.9 (range 0.3–1.5) in the euploidy group ($p=0.000$).

Fourteen trisomy 13 cases (25%) demonstrated no markers of aneuploidy, as opposed to 4903 euploidy cases

(80.7%). Isolated markers were identified in 10 cases of trisomy 13 (17.9%), including seven cases of increased FHR above the 95th percentile, one case of increased NT above the 95th percentile, 2 cases of reversed a-wave in DV (revDV). On the other hand, isolated markers were identified in 1046 cases of euploidy (17.2%), including subjects with increased FHR above the 95th percentile (679 cases), NT above the 95th percentile (153 cases), delayed nasal ossification (51 cases), TR (66 cases), reversed a-wave in DV flow (78 cases) and absent DV (19 cases).

Table 3: Comparison of fetuses with euploidy and trisomy 13 according to four parameters: CRL, crown-rump length; NT, nuchal translucency; FHR, fetal heart rate and MA, maternal age; SD, standard deviation, mm, millimeters, bpm, beats per minute.

Karyotype		CRL (mm)	NT (mm)	FHR (bpm)	MA (years)
Euploidy	n	6077.0	6077.0	6077.0	6077.0
	Mean	63.5	1.7	160.2	30.6
	Median	63.0	1.6	160.0	30.0
	SD	9.1	0.5	7.3	4.2
Trisomy 13	n	56.0	56.0	56.0	56.0
	Mean	63.1	4.1	170.0	32.7
	Median	61.6	3.3	170.0	33.0
	SD	10.1	2.5	10.8	5.9
Statistical significance		0.747	0.000	0.000	0.001

The most common core coincidences of aneuploidy ultrasound markers in trisomy 13 cases were FHR above the 95th percentile with NT above the 95th percentile, noted in 16 cases (28.6%); FHR above the 95th percentile and revDV, found in 13 cases (23.2%); FHR above the 95th percentile with absent NB, found in 13 cases (23.2%) and FHR above the 95th percentile with TR, noted in 12 cases (21.4%). These core combinations were observed in only 30 (0.5%), 11 (0.2%), 6 (0.1%) and 9 (0.15%) euploidy cases, respectively. The details showing the configuration of ultrasound markers of aneuploidy in the euploidy and T13 groups are summarized in Table 4.

Extracardiac malformations (ECMs) were identified in 30 cases of trisomy 13 (53.6%) and in 45 cases of euploidy (0.7%). This difference was statistically significant ($p=0.000$). ECMs were isolated among euploidy cases except in three cases presenting combinations of central nervous system (CNS) and urinary tract anomalies (2 cases) and CNS and facial anomalies (1 case). Twelve trisomy 13 cases presented multiple anomalies (21%). The most common combination included central nervous system and abdominal anomalies (6 cases) followed by abdominal and limb anomalies (3 cases), CNS and urinary tract anomalies (2 cases), and CNS and limb anomalies (1 case). The distribution of anomalies is shown in Table 5.

Regarding congenital heart defects (CHDs), we observed these defects in 23 cases of trisomy 13 (41.1%) and in 32 cases of euploidy (0.5%). The largest fractions of CHDs in trisomy 13 were left heart defects (19.6%) and conotruncal anomalies (12.5%) (details are depicted in Table 6). In addition, we found mesocardia in six cases of trisomy 13 (10.7%) and 1 case of euploidy (0.02%) ($p=0.000$).

Table 4: The configuration and prevalence of isolated and combined markers of aneuploidy in euploid and trisomy 13 fetuses.

Karyotype configuration of US markers		n	%
Euploidy	No markers	4903	80.68
	FHR	679	11.17
	NT	153	2.52
	NT+FHR	23	0.38
	NB	51	0.84
	NB+FHR	11	0.18
	TR	66	1.09
	TR+FHR	9	0.15
	revDV	78	1.28
	revDV+FHR	5	0.08
	noDV	19	0.31
	NT+NB	4	0.07
	NT+TR	7	0.12
	NT+revDV	12	0.20
	NT+NB+revDV	2	0.03
	NT+NB+TR+revDV	1	0.02
	NB+ revDV	5	0.08
	NT+noDV	24	0.39
	NT+noDV+FHR	7	0.12
	NB+TR	2	0.03
	NT+TR+revDV	1	0.02
	NT+SUA	2	0.03
	NT+NB+TR+noDV	1	0.02
	NB+TR+revDV	2	0.03
	NB+revDV+SUA	1	0.02
	revDV+SUA+FHR	1	0.02
	NB+noDV	5	0.08
	noDV+TR	3	0.05
Trisomy 13	No markers	14	25.00
	FHR	7	12.50
	NT	1	1.79
	NT+FHR	4	7.14
	NB+FHR	1	1.79
	revDV+FHR	1	1.79
	revDV	2	3.57
	noDV+FHR	1	1.79
	NT+NB+FHR	2	3.57
	NT+revDV+FHR	3	5.36
	NT+NB+TR+FHR	2	3.57
	NT+NB+TR+revDV+FHR	3	5.36
	NB+revDV+FHR	2	3.57
	NT+noDV+FHR	1	1.79
	NB+TR+FHR	1	1.79
	NT+SUA	1	1.79
	NT+SUA+FHR	1	1.79
	NT+NB+TR+revDV+SUA	1	1.79
	NB+TR+revDV+FHR	1	1.79
	TR+revDV+SUA+FHR	2	3.57
	NB+TR+SUA	1	1.79
	NB+TR+SUA+FHR	1	1.79
	TR+SUA	1	1.79
	TR+SUA+FHR	1	1.79
	TR+revDV+FHR	1	1.79

NT, nuchal translucency above the 95th percentile; TR, tricuspid regurgitation; NB(-), negative nasal bone; revDV, reversed a wave in ductus venosus flow; noDV, absent ductus venosus; SUA, single umbilical artery; FHR, fetal heart rate above the 95th percentile; US, ultrasound.

Logistic regression

A logistic regression model was developed based on the most common ultrasound findings in T13 presenting $OR > 1$. The following parameters were obtained: lack of NB,

$NT \geq 3$ mm, central nervous system anomalies, abdominal anomalies, left heart defects, and the presence of revDV (Table 7).

Screening performance

The actual screening efficacy for detecting trisomy 13 using the T13, T21, and T18 NT+protocols (consisting of NT, FHR, NB, TF, DV PI, and major anomaly findings: AVSD, HPE, MC, CDH, and OMPH) with cut-offs of 1/50, 1/100, and 1/300 is shown in Table 8.

T13 detection rate in relation to maternal age (MA)

We noted seven cases of T13 in the MA range below 26 years, 13 cases between 26 and 30 years, 16 cases in the MA range between 31 and 35 years, 15 cases in the MA range from 36–40 years and five cases in the range above 40 years. The influence of MA on DR and FPR depending on the NT+screening protocol is shown in Figure 2.

Discussion

As previously published, in our series, we observed an increased incidence of primary and secondary ultrasound markers in T13 cases. Regarding NT thickening, our results demonstrate data comparable to those of other authors. The median CRL-independent NT thickness in the subgroup of euploidy was 1.6 mm, and in the subgroup of PS, it was 3.3 mm, which is in line with the findings of Nicolaides et al., who obtained values of 2.0 vs. 4.0 mm, respectively [23]. We obtained also comparable results regarding FHR values above the 95th percentile among T13 fetuses (62.5%) as Papageorgiou et al. who reported FHR above the 95th and 99th percentiles of the normal range for CRL in 71.3 and 51.4% of the T13 cases [16]. However in our series, a wider range of FHR values was observed both in euploidy and T13 groups than published by Wright et al. who obtained values of 159 (155–164) bpm in the euploidy group vs. 179 (172–184) bpm in the PS subgroup [24]. We observed a 1.5% prevalence of TR in the euploidy group compared to 26.8% in the T13 group what turned out to be much less than in the study by Faiola et al.: 8.5% for euploidy vs. 46.6% for T13 [25], absent nasal bone in 1.4% in the euploidy group vs. 26.8% in the T13 group (comparable to the study by Cicero et al.: 2.8% for euploidy vs. 31.8% for T13) [26], and reverse ductus venosus flow in 1.8% in the euploidy group compared to 28.6% in the T13 group which is much lower than the values obtained by Maiz et al.: 3.2% for euploidy vs. 55% for T13 [27], but comparable to the findings of our

Table 5: Extracardiac structural abnormalities summarized in terms of chromosomal status.

Karyotype		Euploidy		T13	
Frequency		n	%	n	%
Type of extracardiac anomaly	No ECM	6032	99.4	26	46.4
	Hydrops	4	0.1	0	0.0
	Central nervous system anomalies	10	0.2	15	26.8
	Abdominal anomalies	9	0.2	12	21.4
	Urinary tract anomalies	8	0.1	4	7.1
	Limb anomalies	7	0.1	6	9.5
	Facial and neck anomalies	7	0.1	5	7.9
	Thoracic anomalies	3	0.0	0	0.0

ECM, extracardiac malformation.

Table 6: Cardiac anomalies summarized in the euploidy and trisomy 13 groups.

Karyotype	Euploidy		T13	
	n	%	n	%
No CHD	6045	99.5	33	58.9
Septal defects	18	0.3	5	8.9
Conotruncal anomalies	4	0.1	7	12.5
Left heart defects	5	0.1	11	19.6
Right heart defects	4	0.1	0	0.0
Rare anomalies	1	0.0	2	3.6

CHD, congenital heart defect

Table 7: Odds ratios (ORs) for the most common features found in T13 fetuses based on a logistic regression model.

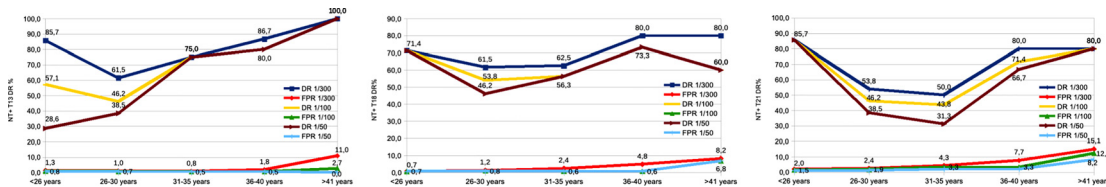
	P	OR	95% CI for OR	
			Lower limit	Upper limit
Lack of NB	0.000	6.3	2.4	16.2
RevDV	0.040	3.1	1.1	8.9
Abdominal anomaly	0.000	24.3	7.4	79.3
Left heart defects	0.001	18.2	3.4	98.3
CNS anomaly	0.000	205.4	63.2	667.7
$NT \geq 3$ mm	0.000	36.5	17.0	78.1

NB, nasal bone; RevDV, reversed a wave in ductus venosus flow; CNS, central nervous system; NT, nuchal translucency.

Table 8: Screening performance summary of the methods used in this study.

Screening method	NT+T13 1/50	NT+T13 1/100	NT+T13 1/300	NT+T21 1/50	NT+T21 1/100	NT+T21 1/300	NT+T18 1/50	NT+T18 1/100	NT+T18 1/300
Sensitivity	64.3% (51.2 – 75.5)	69.6% (56.6 – 80.1)	78.6% (66.2 – 87.3)	53.6% (40.7 – 65.9)	58.9% (45.8 – 70.8)	66.1% (53.0 – 77.1)	60.7% (47.6 – 72.4)	62.5% (49.4 – 73.9)	69.6% (56.7 – 80.1)
Specificity	99.3% (99.1 – 99.5)	99.2% (98.9 – 99.4)	98.8% (98.5 – 99.1)	98.0% (97.6 – 98.3)	96.9% (96.5 – 97.3)	96.2% (95.6 – 96.6)	99.1% (98.8 – 99.3)	98.9% (98.6 – 99.1)	97.9% (97.5 – 98.2)
PPV	47.4% (36.5 – 58.4)	44.8% (34.8 – 55.3)	37.9% (29.6–47.0)	20.0% (14.4 – 27.1)	15.1% (10.9 – 20.4)	13.7% (10.1 – 18.3)	39.1% (29.5 – 49.6)	34.6% (26.1 – 44.3)	23.3% (17.6 – 30.3)
NPV	99.7% (99.5 – 99.8)	99.7% (99.5 – 99.8)	99.8% (99.6 – 99.9)	99.6% (99.4 – 99.7)	99.6% (99.4 – 99.7)	99.7% (99.5 – 99.8)	99.6% (99.45–99.8)	99.6% (99.5 – 99.7)	99.7% (99.5 – 99.8)
Diagnostic accuracy	99.0 (98.7 – 99.2)	98.9% (98.6 – 99.2)	98.6% (98.3 – 98.9)	97.6% (97.2 – 97.9)	96.6% (96.1 – 97.0)	95.9% (95.4 – 96.4)	98.8% (98.5 – 99.0)	98.6% (98.2 – 98.8)	97.6% (97.2 – 97.9)

T13, trisomy 13; T18, trisomy 18; T21, trisomy 21; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. In brackets, the estimates of lower to upper 95% confidence intervals (CIs) are shown.

**Figure 2:** From the left: detection rates (DRs) and false-positive rates (FPRs) of the “NT+T13”, “NT+T18” and “NT+T21” for cutoffs of 1/300, 1/100, 1/50 depending on maternal age (MA) ranges.

previous studies: 2.5% for euploidy compared to 25% for T13 [28].

Regarding the presentation of the ultrasound markers, at least one marker was observed in 75% of fetuses with T13 compared to 19.3% of fetuses with normal karyotypes. This means that a considerable group of T13 subjects (25%) showed normal FHR and a lack of NT thickening or the presence of absent NB, revDV, noDV, TR or SUA. Isolated ultrasound markers were identified in 17.9% of these fetuses. Only the remaining 57.1% of T13 cases presented with more than one of the abovementioned markers concomitantly. In our opinion, the fact that the significant number of T13 fetuses did not present any markers or presented only isolated markers is another reason that screening for T13 is challenging at the time of first-trimester sonography esp. basing on ultrasound-only strategy. In our previous studies, concomitant findings of ultrasound markers (primary or secondary) were observed in 71.4, 91.9, and 74.2% of T21, T18, and Turner syndrome cases, respectively, which increased the effectiveness of multi-parameter ultrasound-only screening for these aberrations [18, 19, 29]. Additionally, isolated ultrasound markers were observed in 7.7, 5.4, and 25.8% of T21, T18, and Turner syndrome cases, respectively, but in the context of Turner

syndrome, no cases without any ultrasound marker presentation were identified [18, 19, 29].

The most common congenital anomalies in the group of fetuses with PS were cardiac defects (41.1%), which is in agreement with other authors. However, this value is much lower than that described by Watson et al. (58%), or Chen (80%) [1, 30]. Among all anomalies, left heart defects were the most common. This observation was not raised before by other authors. This also refers to mesocardia, which we found statistically significant among T13 fetuses in our series.

Comparing the frequency of extracardiac ultrasound findings in T13 cases with the available literature, we obtained diversified results. Most studies describing fetal anatomy were conducted during the second trimester screening. Facial and neck anomalies were visualized in 7.9% of fetuses in our study, compared to 16–52% reported by other authors [31–33]. CNS anomalies were present in our study in 26.8% of cases vs. 52.0–64.3% described in the literature, and these anomalies increased the OR for T13 by 205.4 according to our regression model [32, 34]. Abdominal anomalies were found in 21.4% of cases vs 9.1% of cases reported by Snijders et al., with an OR for T13 of 24.3 [34]. Urinary tract anomalies were found in 7.1% of cases in

comparison to 42.9% reported by Papp et al. [32]. Limb anomalies were detected in 9.5% of cases in our study, whereas other authors reported rates of 3.0–7.1% [31, 32]. Szigeti et al. pointed out the difficulties in sonographic assessment of the limbs; in their study, limb defects were visible in 8% of T13 fetuses, while in the postmortem examination, such defects were present in as many as 64% of fetuses [33]. Witters et al. described postaxial polydactyly with small hyperconvex nails as typical for T13 [4].

Regarding screening performance, the best general DR in our study (DR of 78.6% with a FPR of 1.2%) was obtained for a cut off of 1/300 utilizing the “NT+T13” algorithm, whose DR was comparable to the CST DR of 80% obtained by the Danish Fetal Medicine Study Group presenting the leading national wide screening setup in Europe [12]. The Danish group utilized CST risk for T21>1:300 or for T13/18 risk>1:150 for detecting T13. This means that PS remains one of the challenges of first trimester screening independent of the methodology. EUROCAT data, collected between 2013 and 2017, covered 610 T13 cases, of which 578 (94.75%) were detected prenatally. Only 249 (40.82%) of these cases were detected in the first trimester, whereas 224 (36.55%) cases were detected after 14 weeks of gestation; however, the data were incomplete; in 106 (17.38%) cases, no information was provided. Nonetheless, the T13 detection rate in the first trimester was rather low across the population in comparison with the DRs of T21 and T18 [3].

According to ROC curves for fixed FPRs of 3 and 5%, the T13 detection rates reached 86 and 91%, respectively, in the “NT+T13” algorithm. It should be noted, however, that these results come with cutoffs read from ROC curves of 1/1512 and 1/3427, respectively (Table 9). In the available literature, some authors fail to mention cutoff points read from the ROC curves, and the results are given only in the “DR at fixed FPR” format [35]. In our opinion, from a clinical point of view, the effectiveness of the cutoff points seems to be a crucial matter for the screening practitioner. We reached a similar conclusion in our previous study [8].

Regarding our analysis, it should be noted that taking into account the DRs depending on MA, the obtained DR level was rather suboptimal, generally speaking, in younger patients. In the MA ranges of 26–30 and 31–35 years, the “1/300 T13 NT+” model showed DRs only of 61.5 and 75%, respectively, with an FPR of 1 and 0.8%, respectively, which would suggest avoiding this test in the abovementioned MA groups. However, in the youngest group of patients (MA<26 years), the results of this model were promising (DR of 85.7% with an FPR of 1.3%). The best screening performance was obtained by using our “1/300 T13 NT+” model in patients older than 36 years, reaching a DR of 86.7% with an FPR of 1.8% in the group of patients

Table 9: Detection rates (DR) and 95% confidence intervals (CI) at fixed false positive rates (FPR) of 3 and 5% in screening methods used in the study.

Screening test	AUC	DR% (95% CI) at 3% FPR	ROC calculated cut-off	DR% (95% CI) at 5% FPR	ROC calculated Cut-off
NT+T13	0.975	86.0% (81.6–91.4)	1/1512	91.0% (85.4–96.6)	1/3427
NT+T21	0.904	59.0% (54.5–63.5)	1/97	70% (65.1–74.9)	1/731
NT+T18	0.906	73.0% (68.0–78.0)	1/409	77% (71.9–82.1)	1/830

AUC, area under the curve.

with a MA between 36 and 40 years and even a DR of 100% with an FPR of 11% in patients older than 40 years. In this advanced MA group, our results even outperform the T13 general DR figure from the Danish study. However, that study did not focus on the influence of MA on screening performance [12].

The results obtained with the “NT+T18” and the “NT+T21” protocols were generally worse, although in the group of younger patients, using the “NT+T18” algorithm with a cutoff of 1/300 resulted in slightly better DRs (DRs for patients in the MA range of 26–30 years and 31–35 years were 62.5 and 80%, respectively, with an FPR of 2.4 and 4.8%, respectively). A significant decrease in DR for patients with an MA below 36 years was noticeable for cutoff points of 1/100 and 1/50, especially for the “NT+T13” algorithm, though the DR reduction was not as marked for the “NT+T21” algorithm (Figure 2). These results correspond to the data published by Tonks et al., where it was shown that the DR for T13 was higher in the group of patients older than 35 [2]. Thus, if multiparameter ultrasound-only screening was performed in this group using the “NT+T13” protocols, a significant proportion of fetuses with PS in subjects younger than 36 years of age may be missed. To maintain DR at the level of 80% in subjects between 31 and 35 years old, “NT+T18” with a cutoff of 1/300 may be of help if the proposed multiparameter ultrasound-only screening model is aiming to detect T13.

Our results for a multiparameter ultrasound protocol in detecting T13 are weaker than the results obtained in similar studies performed by our team and other investigators in the context of trisomy 21 and trisomy 18 using the “NT+T18” and “NT+T21” algorithms [17–19, 35]. This is probably because the FMF risk calculation software takes into account only such anatomical abnormalities as AVSD,

HPE, MC, CDH, and OMPH and does not include abnormalities such as upper limb defects (polydactyly), craniofacial defects (cleft lip/palate, proboscis, cyclopia, micrognathia) or non-AVSD cardiac defects that are quite common in fetuses with PS [1, 4, 31–34]. Thus, second trimester screening gives much better results in detecting T13. Benacerraf reported the sensitivity to be 90–100% when a detailed second trimester scan was performed [36]. Moreover, the influence of the maternal age factor in women aged younger than 35 is probably less notable in the risk calculation program. A weaker correlation between the incidence of T13 and maternal age was reported in a study by Savva et al., who observed a smaller increase in T13 prevalence over the years, despite the MA increase, in comparison to other major trisomies [37]. Analyzing the EUROCAT data regarding maternal age, 275 (45.08%) cases of T13 were diagnosed in the group with an MA younger than 35 years vs. 303 (49.67%) cases in the group older than 35 years; for the remaining 32 (5.25%) cases, no information was provided. For comparison, the percentages of T21 and T18 cases detected in the MA younger than 35 group were only 23.12 and 31.55%, respectively [3].

The strengths of our study include the large number of patients enrolled with a considerable number of T13 cases and the fact that it was a prospective study. Screening model evaluation was performed by highly competent professionals in the field of first trimester sonography, which is representative for analyzing the power of ultrasound-only methods in first trimester screening for T13. Regarding weaknesses, the incidence of T13 in our study was 1/110, which is much higher than in the general population [1]. The reason for this prevalence is that the material was collected partially from high-risk patients and from subjects referred for screening with initial suspicion. In addition, the patients were of Caucasian origin, so the results of the study may not be relevant to other ethnic groups.

Taking into account the abovementioned results in the context of T13, inclusion of PAPP-A and free beta-HCG into the FMF risk calculation seems to be unavoidable if the examiner qualifies the patient for invasive testing based only on the individual risk figures from FMF algorithm [8]. This applies even, if the screening is carried out by unquestioned experts in the field of first-trimester ultrasound as was done in our study. However, if a combination of ultrasound markers of aneuploidy and a wider scope of early anomaly findings indicative of T13, including limb, craniofacial, CNS, and left heart anomalies or mesocardia, are considered in addition to the risk results, the examiner may minimize the chance of missing T13.

In our previous research, we obtained a DR of 92.3% with an FPR of 2.5% for CST in screening for T13 [8]. Other

authors reported DRs in the range of 75–92% with FPRs of 0.5–4.0% for CST [6, 7, 13], but the most reliable screening method seems to be that from the Danish study based on national data presenting the abovementioned DR of 80% (retrospective study covering four-year countrywide screening) [12]. It is worth mentioning that even though other methods, including classic CST and noninvasive prenatal screening (NIPT), show better detection rates for T13 than the “NT+T13” algorithm, they are still not as effective in detecting T13 as they are in screening for T21 or T18 [6, 8, 12, 14, 15, 18, 19].

In conclusion, the effectiveness of the multiparameter ultrasound-only approach used for T13 screening showed promising results in patients older than 36 years and suboptimal results in patients between 26 and 36 years old, even using the 1/300 cutoff point in the targeted “NT+T13” protocol. A significant reduction in DR was found in younger patients. In our opinion, the main reason for this fact is the influence of the maternal age factor in the FMF algorithm in women aged below 35, which reduces the individual risk figures in some cases presenting positive ultrasound findings; and that more specific anomalies for trisomy 13 are not included in the FMF risk calculation algorithm.

To conclude, in ultrasound first trimester screening for T13 combinations of left heart defects, CNS anomalies, abdominal anomalies, increased NT, FHR above the 95th percentile, revDV and lack of NB should receive specific attention.

Research funding: None declared.

Author contributions: All authors have accepted responsibility for the entire content of this manuscript and approved its submission.

Competing interests: Authors state no conflict of interest.

Informed consent: Informed consent was obtained from all individuals included in this study.

Ethical approval: The local Ethics Committee approved the study protocol.

References

1. Chen CP. Prenatal sonographic features of fetuses in trisomy 13 pregnancies (III). Taiwan J Obstet Gynecol 2009;48:342–9.
2. Tonks AM, Gornall AS, Larkins SA, Gardosi JO. Trisomies 18 and 13: trends in prevalence and prenatal diagnosis – population based study. Prenat Diagn 2013;33:742–50.
3. Guide 1.4: Instruction for the registration of congenital anomalies. EUROCAT central registry. Northern Ireland: University of Ulster; 2013. https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat_en EUROCAT.

4. Witters G, Van Robays J, Willekes C, Coumans A, Peeters H, Gyselaers W, et al. Trisomy 13, 18, 21, triploidy and Turner syndrome: the 5T's. Look at the hands. *Facts Views Vis Obgyn* 2011; 3:15–21.
5. Duque JA, Ferreira CF, Zachia SD, Sanseverino MT, Gus R, Magalhães JA. The natural history of pregnancies with prenatal diagnosis of trisomy 18 or trisomy 13: retrospective cases of a 23-year experience in a Brazilian public hospital. *Genet Mol Biol* 2019;42:286–96.
6. Spencer K, Ong C, Skentou H, Liao H, Nicolaides K. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000;20:411–16. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0223\(200005\)20:5<411::aid-pd822>3.0.co;2-2](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0223(200005)20:5<411::aid-pd822>3.0.co;2-2).
7. Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. Detection of trisomy 18 and trisomy 13 using first and second trimester Down's syndrome screening markers. *J Med Screen* 2013;20:57–65.
8. Rajs B, Pasternok M, Nocuń A, Matyszkiewicz A, Ziętek D, Rozmus-Warcholińska W, et al. Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2019; 1–7. <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1623779>.
9. Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a onestop clinic: a review of three years prospective experience. *Br J Obstet Gynaecol* 2003;110:281–6.
10. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:221–6.
11. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31:618–24.
12. Vogel I, Tabor A, Ekelund C, Lou S, Hyett J, Petersen OB. Population-based screening for trisomies and atypical chromosomal abnormalities: improving efficacy using the combined first trimester screening algorithm as well as individual risk parameters. *Fetal Diagn Ther* 2019;45:424–9.
13. Santorum M, Wright D, Syngelaki A, Karagiorgi N, Nicolaides KH. Accuracy of first-trimester combined test in screening for trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;49:714–20.
14. Ashoor G, Syngelaki A, Wang E, Struble C, Oliphant A, Song K, et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41:21–5.
15. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH, et al. Analysis of cell free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:249–66.
16. Papageorgiou AT, Avgidou K, Spencer K, Nix B, Nicolaides KH. Sonographic screening for trisomy 13 at 11 to 13(+6) weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:397–401.
17. Wagner P, Sonek J, Hoopmann M, Abele H, Kagan KO. First-trimester screening for trisomies 18 and 13, triploidy and Turner syndrome by detailed early anomaly scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;48:446–51.
18. Wiechec M, Knafel A, Nocun A, Matyszkiewicz A, Juszcak M, Wiercinska E. How effective is first-trimester screening for trisomy 21 based on ultrasound only? *Fetal Diagn Ther* 2016;39: 105–12.
19. Wiechec M, Anna K, Nocun A, Matyszkiewicz A, Wiercinska E, Latała E. How effective is ultrasound-based screening for trisomy 18 without the addition of biochemistry at the time of late first trimester? *J Perinat Med* 2016;44:149–59.
20. Springhall EA, Rolnik DL, Reddy M, Ganesan S, Maxfield M, Ramkrishna J, et al. How to perform a sonographic morphological assessment of the fetus at 11–14 weeks of gestation. *Australas J Ultrasound Med* 2018;21:125–37.
21. Kotarski J, Wielgos M. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące postępowania w zakresie diagnostyki prenatalnej. *Ginekolog* 2009;80:390–3.
22. Bethune M, Alibrahim E, Davies B, Yong E. A pictorial guide for the second trimester ultrasound. *Australas J Ultrasound Med* 2013; 16:98–113.
23. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn* 2011;31:7–15.
24. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:118–26.
25. Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaides KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at the 11 to 13 þ 6-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:22–7.
26. Cicero S, Longo D, Rembouskos G, Sacchini C, Nicolaides KH. Absent nasal bone at 11–14 weeks of gestation and chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;22:31–5.
27. Maiz N, Valencia C, Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11–13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:512–17.
28. Wiechec M, Nocun A, Knafel A, Wiercinska E, Sonek J, Rozmus-Warcholinska W, et al. Combined screening test for trisomy 21 – is it as efficient as we believe? *J Perinat Med* 2017;45:185–91.
29. Wiechec M, Knafel A, Nocun A, Wiercinska E, Ludwin A, Ludwin I. What are the most common first-trimester ultrasound findings in cases of Turner syndrome? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017;30: 1632–6.
30. Watson WJ, Miller RC, Wax JR, Hansen WF, Yamamura Y, Polzin WJ. Sonographic detection of trisomy 13 in the first and second trimesters of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2007;26:1209–14.
31. Kroes I, Janssens S, Defoort P. Ultrasound features in trisomy 13 (Patau syndrome) and trisomy 18 (Edwards syndrome) in a consecutive series of 47 cases. *Facts Views Vis Obgyn* 2014;6: 245–9.
32. Papp C, Beke A, Ban Z, Szigeti Z, Toth-Pal E, Papp Z. Prenatal diagnosis of trisomy 13: analysis of 28 cases. *J Ultrasound Med* 2006;25:429–35.
33. Szigeti Z, Csapo Z, Joo JG, Pete B, Papp Z, Papp C. Correlation of prenatal ultrasound diagnosis and pathologic findings in fetuses with trisomy 13. *Prenat Diagn* 2006;26:1262–6.
34. Snijders RJ, Sebire NJ, Souka A, Santiago C, Nicolaides KH. Fetal exomphalos and chromosomal defects: relationship to maternal age and gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;6: 250–5.
35. Abele H, Wagner P, Sonek J, Hoopmann M, Brucker S, Artunc-Ulkumen B, et al. First trimester ultrasound screening for Down

syndrome based on maternal age, fetal nuchal translucency and different combinations of the additional markers nasal bone, tricuspid and ductus venosus flow. *Prenat Diagn* 2015;35: 1182–6.

36. Benacerraf B. *Ultrasound of Fetal Syndromes*, 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2008. 483–96 pp.



37. Savva GM, Walker K, Morris JK. The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21 (Down syndrome). *Prenat Diagn* 2010;30:57–64.

Supplementary material: The online version of this article offers supplementary material (<https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0383>).

ORIGINAL ARTICLE



Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol

Bartosz Rajs^a , Marcin Pasternok^b, Agnieszka Nocuń^c, Anna Matyszkiewicz^{a,c}, Damian Ziętek^b, Wioletta Rozmus-Warcholińska^d, Sebastian Zalewski^e, Michał Migda^f, Judene Mavrikis^g and Marcin Wiechec^{a,c} 

^aJagiellonian University in Krakow, Kraków, Poland; ^bCenter for Prenatal Diagnostics, Opole, Poland; ^cUltrasound Group Practice, "MWU DOBREUSG", Kraków, Poland; ^dSt. Lucas Obstetric Center, Częstochowa, Poland; ^eMedical Center Semedica, Kraków, Poland; ^fCivis Vita Centrum Medyczne, Toruń, Poland; ^gCollegium Medicum, School of Medicine in English, Jagiellonian University, Kraków, Poland

ABSTRACT

Aims: To compare the screening capability of ultrasonography in detecting trisomy 13 (T13) using a multiparameter sonographic protocol (NT+) with a classical combined screening test (CST) protocol.

Methods: The project was a prospective, multicenter study based on a nonselected mixed-risk population of women referred for a first-trimester screening examination. Each subject was offered a choice between either the gold standard, traditional combined screening test (CSG arm) or the ultrasound-based screening protocol (USG arm). General and MA-based screening performances were checked.

Results: The study population comprised 20,887 pregnancies: 12,933 in the CSG arm, including 27 cases of T13, and 7954 in the USG arm, including 30 cases of T13. The DR for T13 was higher in the CSG arm than in the USG arm for all tested cutoff points: 1/50 (88.5 versus 63.3%, respectively), 1/100 (88.5 versus 70%, respectively) and 1/300 (92.3 versus 83.3%, respectively). Using the ROC curves for fixed FPRs of 3 and 5%, the T13 detection rate in our study reached 90 and 93%, respectively, in the USG arm and 92 and 96%, respectively, in the CSG arm. MA influenced the T13 screening performance in the USG arm and reduced the DR in patients <31 years. Such influence was not detected in the CSG arm.

Conclusions: Classic CST was more effective in detecting T13 than the ultrasound-only approach. However, the recommended cutoff of 1/50 showed unsatisfactory results for both traditional CST and the multiparameter sonographic test we proposed.

ARTICLE HISTORY

Received 11 March 2019
Revised 19 May 2019
Accepted 22 May 2019

KEYWORDS

Combined screening; first trimester; free β -hCG; PAPP-A; trisomy 13

Introduction

Trisomy 13 (T13), also called Patau syndrome, is the third most common autosomal trisomy [1]. Fetuses with T13 often experience intrauterine fetal demise, and of those who are born alive, 20% will survive the first month of life, and 5% will survive the first 6 months. The estimated incidence of T13 is 1 in 5000–20,000 live births [2]. T13 is associated with a characteristic pattern of congenital anomalies, including single umbilical artery, prolonged persistence of fetal hemoglobin, microcephaly, microphthalmia, bilateral cleft lip and palate, alobar holoprosencephaly and a wide variety of abnormalities involving the heart and great vessels [3]. First-trimester screening for T13 based on maternal age, fetal nuchal translucency (NT), and biochemical markers in maternal serum has been shown to have a high detection rate (DR) of 90% with

a false-positive rate (FPR) of 0.5% [4]; however, in another study, Combined Screening Test (CST) by using the algorithm for trisomy 21 showed DR for T13 at the level of 59%. By adding algorithm for trisomy 18, DR rose to 74%, and by adding T13 algorithm DR increased to only 75%. The same study showed that QUAD and Integrated Screening Test results present even lower DRs for T13 [5]. T13 is associated with a decrease in maternal serum-free β -hCG and PAPP-A and an increase in fetal nuchal translucency [4,6]. However, the use of biochemical markers in maternal serum as a screening tool for T13 seems to be less promising than for other aneuploidies, such as trisomy 21 (T21) and trisomy 18 (T18), for which serum markers are also used. Additionally, noninvasive prenatal screening (NIPT) for T21 showed a detection rate (DR) above 99% with a false-positive rate (FPR) of

below 1%, while for T13, the DR is only 80–91% with a FPR below 1% [7–10]. In comparison, Benacerraf reported the sensitivity of ultrasonography in diagnosing T13 to be 90–100% when a detailed second-trimester scan was performed [11]. First-trimester sonographic characteristics of T13 are well described and include the following: increased NT, holoprosencephaly, microcephaly, facial abnormalities, cardiac abnormalities, exomphalos and postaxial polydactyly [1,12–15].

Altogether, trisomy 13 has the lowest first and second trimester detection rates among major trisomies basing on various first and second trimester screening policies [5].

In our screening population, we have observed cases of trisomy 13, which were screen negative in CST. Delayed diagnosis of T13 to the time of second trimester enhances parental stress because of fetal-maternal bonding caused by factors like maternal perception of fetal movements.

This is why we decided to conduct a study focused on T13 basing on our previous experiences with screening for trisomy 21, trisomy 18, and Turner syndrome. However, we were aware that in screening for T13, other parameters may play role, and the background risk differs from background risks for other major trisomies.

Despite advances in early diagnostic methods for detecting T13, there is a lack of studies describing the accuracy and reproducibility of screening based solely on ultrasound in comparison to those of screening based on biochemical markers combined with NT.

The aim of our study was to compare the screening capability of ultrasonography in detecting T13 using a multiparameter sonographic protocol (NT+) with a classical combined screening test (CST) protocol. Our sonographic multiparameter protocol was based on NT, nasal bone (NB), tricuspid flow (TF), and ductus venosus velocimetry (DV) enhanced with early anomaly and echocardiography findings.

Materials and methods

The project was a prospective, multicenter observational study that was based on a nonselected mixed-risk population of women referred for a first-trimester screening examination and that spanned from January 2012 to January 2017. The study protocol was approved by the Bioethics Committee at the District Medical Chamber in Krakow (opinion no. 77/KBL/OIL/2012). We recruited patients at the following six referral centers: Ultrasound Group Practice “MWU

DOBREUSG” (Krakow), Ultrasound Laboratory at the Department of Gynecology and Obstetrics of Jagiellonian University (Kraków), St. Lukas Obstetric Center (Czestochowa), Opolian Center for Prenatal Diagnostics (Opole), Medical Center Semedica (Krakow), and Medical Center Civis VITA (Toruń). After the purpose of the study was explained, each subject was offered a choice between either a gold standard, traditional combined screening test (CSG arm) or multiparameter ultrasound-based screening (USG arm) performed by highly competent physicians at the first-trimester sonography. All subjects were informed regarding the screening performance of CST and the results of our previous studies showing the high screening performance of multiparameter ultrasound-based screening for T21, trisomy 18 (T18), and Turner syndrome but unknown results for T13. Subjects were also informed that they were allowed to change their study arm until when the crown-rump length (CRL) measurement exceeded 84 mm. Each participant signed a written consent form.

A group of patients was assessed for eligibility based on inclusion and exclusion criteria. The following inclusion criteria were used in this study: singleton pregnancy, crown-rump length (CRL) measurement of 45–84 mm, and known pregnancy outcome. The exclusion criteria included multiple pregnancy, pregnancy over 14 weeks, and intrauterine fetal death.

We applied the same screening methods as described in our study designed for the detection of T18, including using adjusted T13 risks with cutoffs of 1/50, 1/100, and 1/300 in both arms of the study [16].

In the CSG arm, the adjusted risk for T13 was calculated based on the maternal age (MA), fetal nuchal translucency (NT), fetal heart rate (FHR), measurement of the placental products of free β -hCG and PAPP-A (in MoM) in maternal blood samples using accredited and quality controlled Cobas E4 Analyzer (Roche, Mannheim, Germany), major anomaly findings with fixed risk values (holoprosencephaly, exomphalos, diaphragmatic hernia, AVSD, and megacystis), and major anomalies without any influence on the risk for aneuploidy (anencephaly and severe limb defects) with the use of Fetal Medicine Foundation (FMF) algorithm software (Astraia GmbH, Munich, Germany). In the USG arm, the adjusted risk for T13 was calculated using FMF software based on MA, NT, FHR, all secondary markers [ductus venosus flow (DV), tricuspid flow (TF), nasal bone (NB)] and major anomaly findings (the same as in the CSG arm). Taking into account the significance of early anomaly findings for T13 screening,

all identified abnormalities at the time of nuchal scan were recorded.

Statistical analysis

SPSS Statistics v(0).17 software (IBM Co., Armonk, NY, USA) was used for calculations. The results with $p < .05$ were considered significant. The screening performance was measured by the following parameters: DR (detection rate), FPR (false-positive rate), screening accuracy, PPV (positive predictive value), and NPV (negative predictive value) using receiver-operator characteristic (ROC) analysis. Comparison of the means was performed with the nonparametric Mann–Whitney U-test for two independent tests. The sets of independent variables were compared applying Student's t -test. The χ^2 test was utilized to check the differences. The Kolmogorov–Smirnov test was used for continuous variable distribution.

Results

Screening for aneuploidy was carried out for 22,240 singleton pregnancies that were not randomly recruited to this study. Fetal karyotyping was obtained by means of amniocentesis (2318 cases). The remainder of the subjects included in the study were considered to be euploid based on postnatal assessment. A total of 1353 (6.1%) cases were excluded from further analysis because in 943 (4.2%) cases, it was impossible to determine the fetal karyotype due to loss before follow-up; in 93 (0.4%) cases, miscarriages not related to invasive testing occurred; in 51 (0.2%) cases, intra-uterine fetal demise (IUFD) occurred without subsequent karyotyping, and in 266 (1.2%) cases, there was a chromosomal abnormality other than trisomy 13 (trisomy 21 in 143 cases; trisomy 18 in 52 cases; Turner syndrome in 41 cases; triploidy in 12 cases; Klinefelter syndrome in five cases; 47, XX, +idic(22) in one case; 46, XY, del(4)(q13.3q21.3) in one case; 46, XX, del(22)(q11.2q11.2) in one case; 46, XX, der(4)t(4;6)(p16;q23.3) in one case, 45, XX, der(14;21)(q10;q10) in one case, 47, XY + 18(29)/46, XY(26) in one case, 47, XY + 21(47)/46, XY(3) in one case, 45, X, der(5)t(5;14)(p11;p11) in one case, 45, XY, der(4)(4;13)(p15.3;q12) in one case, 46, XX, del(22)(q11.2;q11.2) in one case, 46, XY [10]/46, XY, t(4;14)(q10;q10) [15] in one case, 46, XX, der(9)t(2;9)(q33;p24) in one case, and 46, XY, inv(16)(p12q21) in one case).

Therefore, our study population comprised 20,887 pregnancies: 12,933 in the CSG arm, including 27

cases of T13, and 7954 in the USG arm, including 30 cases of T13 (Figure 1).

The median maternal body mass index was 22.6 kg/m² (range 17.3–35.8) in the CSG arm and 22.7 kg/m² (range 17.3–35.9) in the USG arm. These differences were not statistically significant ($p > .05$). All women participating in this study were Caucasian.

In the context of T13 and euploidy subjects, the USG arm showed no statistical significance according to CRL ($p = .366$) and maternal age ($p = .530$) but showed a statistical significance between euploidy and trisomy 13 according to NT ($p = .000$) and FHR ($p = .000$). In the context of T13 and euploidy subjects, the CSG arm showed no statistical significance according to CRL ($p = .594$) and maternal age ($p = .165$) but showed statistical significance between euploidy and trisomy 13 according to NT ($p = .000$), FHR ($p = .000$), free β -HCG ($p = .000$), and PAPP-A ($p = .000$). The demographic, sonographic, and biochemical parameters of each study arm are shown in Table 1.

In both arms of the study, the best sensitivity was obtained for 1/300 cutoffs: 92.3 and 83.3% for CST T13 and NT + T13, respectively. The lowest FPR (false-positive rate), on the other hand, was demonstrated for 1/50 cutoffs in both arms of the study. All screening tests in the CSG and USG arms demonstrated very high negative predictive values and high diagnostic accuracy.

The screening performance results for each study arm according to the cutoffs arranged in the protocol are shown in Table 2.

ROC analysis for both screening strategies for fixed 3 and 5% FPRs was also performed. The results are presented in Table 3.

In both arms of the study, patients with trisomy 13 were assigned to groups based on MA (maternal age) as follows: below 26 years old (no patients in the CSG and 7 patients in the USG); 26–30 years (7 patients in the CSG and 6 patients in the USG), 31–35 years (5 patients in the CSG and 10 patients in the USG), 36–40 years (11 patients in the CSG and 5 patients in the USG), and over 41 years (5 patients in the CSG and 3 patients in the USG). Detection rates and false-positive rates according to maternal age ranges in the USG arm and the CSG arm are shown in Figures 2 and 3:

Discussion

We present the results of a prospective study in which the traditional CST (CSG arm) was compared with an ultrasound screening protocol (USG arm) for T13. To

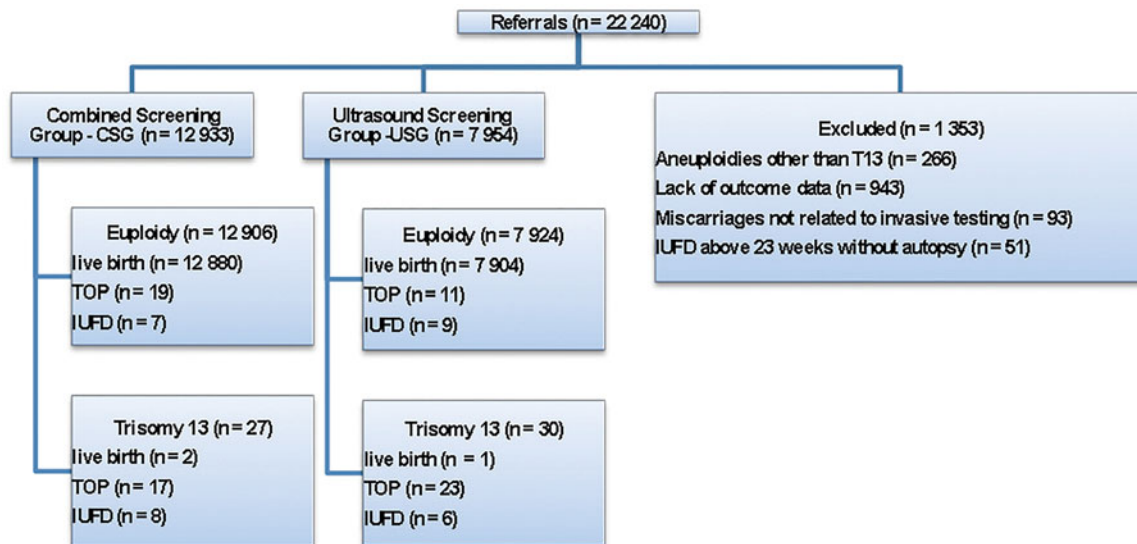


Figure 1. Study population diagram. T13: trisomy 13; IUFD: intrauterine fetal demise; TOP: termination of pregnancy.

Table 1. Demographic and clinical analysis of patients included in the study.

Study arm	CSG		USG	
	Euploid n = 12,906	Trisomy 13 n = 27	Euploid n = 7924	Trisomy 13 n = 30
Median maternal age (IQR)	34 (15–48)	36 (26–42)	30 (16–46)	32 (17–42)
Maternal age > 35 (%)	5766 (44.7)	18 (44.4)	2628 (33.0)	23 (76.7)
Median crown-rump length (IQR)	65.5 (45.0–84.0)	62.4 (47.0–81.0)	63.5 (45.0–84.0)	60.2 (45.0–84.0)
Median NT (IQR)	1.8 (0.1–4.9)	2.6 (1.4–6.4)	1.7 (0.1–4.9)	4.9 (1.4–11.5)
NT >95 percentile	874 (6.8)	18 (64.3)	5 (16.6)	14 (46.7)
Median FHR (IQR)	159 (101–207)	171 (149–201)	160 (109–191)	169 (148–189)
Absent NB (%)	NA	NA	107 (1.4)	11 (26.7)
TR (%)	NA	NA	98 (1.2)	6 (20.0)
Reverse DV (%)	NA	NA	116 (1.4)	9 (39.0)
>1 structural defect, n (%)	34 (0.7)	6 (21.4)	51 (0.9)	12 (41.4)
CNS anomaly, n (%)	43 (0.3)	6 (19.4)	43 (0.3)	6 (19.4)
Facial	7 (0.1)	4 (12.9)	7 (0.1)	6 (14.6)
Abdominal anomaly, n (%)	11 (0.1)	4 (12.9)	15 (0.2)	9 (22.0)
Limb anomaly, n (%)	7 (0.1)	3 (9.7)	10 (0.1)	3 (7.3)
Heart defects, n (%)	87 (0.7)	20 (74.1)	56 (0.8)	20 (66.6)
Megacystis, n (%)	2 (0.0)	2 (7.4)	5 (0.1)	1 (3.3)
Median PAPP-A (IQR)	1 (0.1–9.6)	0.2 (0.1–0.8)	n/a	n/a
Median β -HCG (IQR)	0.9 (0.1–9.5)	0.6 (0.2–1.9)	n/a	n/a

our knowledge, no other studies have made this type of comparison. Our results show that the DR for T13 is higher in the CSG arm than in the USG arm for all tested cutoff points: 1/50 (88.5 versus 63.3%, respectively), 1/100 (88.5 versus 70%, respectively) and 1/300 (92.3 versus 83.3%, respectively). In our study, the 1/50 cutoff shows unsatisfactory results for both the traditional CST test and the multiparameter sonographic

test that we proposed (USG arm). However, it should be noted that the risk calculation program, FMF First Trimester Screening (Astraia GmbH, Munich, Germany), recommends a cutoff of 1/50 for T13 as well as for T18.

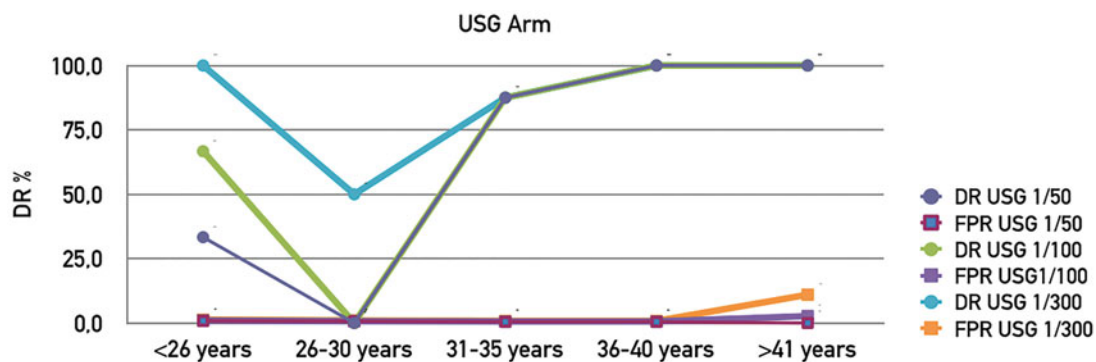
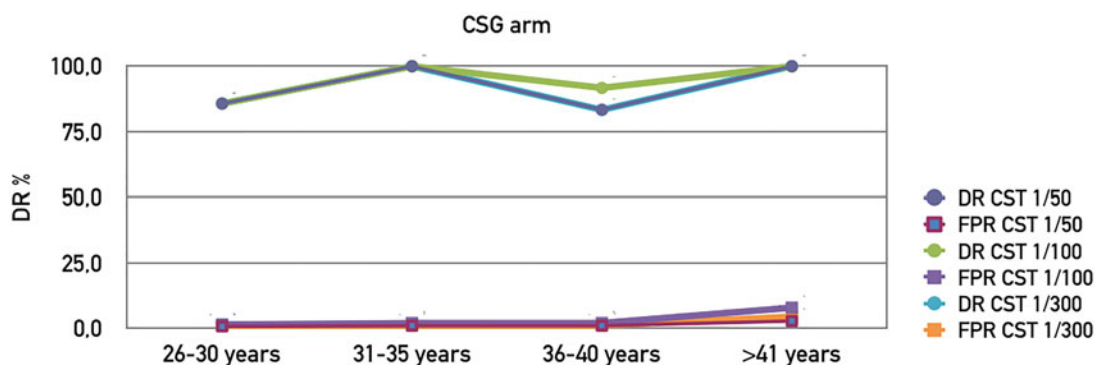
The most effective cutoff point for both methods in the screening for T13 seemed to be 1/300. In this case, we obtained satisfactory results and the smallest difference in screening performance between the

Table 2. Screening performance with fixed risks of 1/50, 1/100, and 1/300.

Study arm Test	Combined Screening Group (CSG)			Ultrasound-based Screening Group (USG)		
	CST T13 with a cutoff of 1/50	CST T13 with a cutoff of 1/100	CST T13 with a cutoff of 1/300	NT + T13 with a cutoff of 1/50	NT + T13 with a cutoff of 1/100	NT + T13 with a cutoff of 1/300
Euploidy high risk (FPR)	124 (0.9%)	175 (1.4%)	323 (2.5%)	40 (0.7%)	48 (0.8%)	72 (1.8%)
T13 high risk (DR)	23 (88.5%)	23 (88.5%)	24 (92.3%)	19 (63.3%)	21 (70%)	25 (83.3%)
Diagnostic accuracy	99.0 (98.8–99.2)	98.6 (98.4–98.8)	97.5 (97.2–97.7)	99.2 (98.9–99.4)	99.1 (98.8–99.3)	98.7 (98.4–98.9)
PPV	15.6 (10.7–22.4)	11.6 (7.9–16.8)	6.9 (4.7–10.1)	32.2 (21.7–44.9)	30.4 (20.8–42.1)	25.8 (18.1–35.3)
NPV	99.9 (99.9–100.0)	99.9 (99.9–100.0)	99.9 (99.9–100.0)	99.8 (99.7–99.9)	99.8 (99.7–99.9)	99.9 (99.8–100.0)

Table 3. Screening performance from ROC analysis.

Screening test		AUC	DR % (95% CI) with a 3% FPR	DR % (95% CI) with a 5% FPR
Combined screening group	CST T13 Cutoff	0.970	92% (83.7–100.3) 1/399	96% (87.6–104.4) 1/983
Ultrasound-based screening group	NT + T13 Cutoff	0.977	90% (82.4–97.6) 1/1512	93% (85.3–100.7–108.1) 1/3427

**Figure 2.** Detection rates (DRs) and false-positive rates (FPRs) of the tests used in the USG arm depending on maternal age ranges.**Figure 3.** Detection rates (DRs) and false-positive rates (FPRs) of the tests used in the CSG arm depending on maternal age ranges.

tests. In the USG arm, we obtained a DR of 83.3% with a FPR of 1.8%, and for the same cutoff point in the CSG arm, we obtained a DR of 92.3% with a FPR of 2.5%. However, better PPV (25.8 versus 6.9, respectively) and diagnostic accuracy (98.7 versus 97.5, respectively) were obtained with the NT + test.

Even though our results showed the highest DR for T13 in CST with the cutoff of 1/300, it should be discussed and evaluated, if the cost of 2.5% FPR coming with this cutoff can be acceptable.

Using the ROC curves for fixed FPRs of 3 and 5%, the T13 detection rates in our study reached 90 and

93%, respectively, in the USG arm and 92 and 96%, respectively, in the CSG arm. It should be noted, however, that these results were obtained by reading from the ROC curve with cutoffs of 1/1512 and 1/3427 for NT+ and 1/399 and 1/983 for CST, respectively. It is difficult to say why the authors in the literature published so far do not provide cutoff points read from the ROC curves, providing the results in only the “DR at fixed FPR” format [17,18]. In our opinion, from a clinical point of view, the effectiveness of the cutoff point is of fundamental importance for the screening practitioner.

Analyzing the dependence of DR on maternal age, we showed a significant decrease in the DR in pregnant women <26 years and in the age range of 26–30 years in the USG arm. The results obtained in the maternal age group range of <26 could not be compared with the CSG arm in our study because there were no patients of this maternal age in that arm (Figure 3). In the case of pregnant women >30 years, we obtained a stable, high DR. The results of DRs in younger women influenced the generally weaker screening performance in the USG arm (Figure 2).

In the CSG arm, a small decrease in the DR occurred in the case of pregnant women aged 36–40; however, in this group, the maternal age did not seem to have such a significant impact on the DR. In agreement with the literature, we showed that in T13, fetal structural abnormalities were identified more often than euploidy [16,19]. The most frequently reported abnormalities in this group are heart defects [11]. Similar to previous studies performed by other researchers, we showed an increased incidence of secondary sonographic markers of aneuploidy in fetuses with T13. In our study, the following markers were significantly more frequent in T13 than in euploidy: absent nasal bone was observed in 26.7% of T13 cases compared with 1.4% of euploidy cases (similar to the study performed by Cicero et al.: 31.8% for T13 versus 2.8% for euploidy [20]), tricuspid regurgitation in 20.0% compared to 1.2% (much less than described in the literature by Faiola et al.: 46.6% for T13 versus 8.5% for euploidy: [21]) and reverse ductus venosus flow in 39.0% for T13 versus 1.4% for euploidy (less than shown in the literature, Maiz et al.: 55% for T13 versus 3.2% for euploidy [22], but more than in our previous studies: 25% for T13 versus 2.46% for euploidy [19]). At least one structural abnormality is more frequently identified in T13 than in euploidy (in the CSG arm, 21.4% compared to 0.7%, and in the USG group, 41.4% compared to 0.9%) [11–15].

We also observed significantly higher fetal heart rate values in the T13 cases than in the euploidy cases ($p = .000$), which is in line with observations of other authors [17,23].

T13, similar to T18, is characterized by a high incidence of structural abnormalities that can be diagnosed during screening tests in the first trimester, but in T13, unlike in T18, the detection rate is higher when using classic CST than when using multiparameter ultrasound only (NT+ test) [16]. This finding can be explained by the fact that the T13 risk calculation protocol according to the FMF does not include cleft lip/palate, the presence of a cardiac defect other than AVSD, or abnormalities of upper limbs, such as polydactyly [24,25].

The strengths of our study are the large number of patients enrolled in both the USG and CSG arms and the fact that the study was conducted prospectively. In the USG arm, the study was conducted by physicians who have been audited for over 10 years in the field of all first-trimester aneuploidy markers. The material was collected in large part from reference centers where patients include populations at risk; hence, there was a higher incidence of T13 than the general population incidence, with 1/479 in the CSG arm and 1/265 in the USG arm [1]. In addition, considering our homogeneous Caucasian population, the study may not be applicable to other ethnic groups. Additionally, the lack of patients below 26 years in the CSG arm may cause difficulties in comparing both arms of our study in terms of younger mothers.

In conclusion, the classic CST was more effective in detecting T13 than the NT+ approach. In our opinion, the main reason for this fact is the ineffective influence of the maternal age factor in women aged below 30 and the lack of application of anomalies more typical for trisomy 13 in the risk calculation algorithm. However, the recommended cutoff of 1/50 showed unsatisfactory results for both the traditional CST and the multiparameter sonographic test we proposed. Using the 1/300 cutoff significantly increases the detection rate for a minimal increase in the false positive rate.

Acknowledgments

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

ORCID

Bartosz Rajs  <http://orcid.org/0000-0002-0363-6966>
 Marcin Wiechec  <http://orcid.org/0000-0003-0656-6614>

References

- [1] Chen CP. Prenatal sonographic features of fetuses in trisomy 13 pregnancies (III). *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2009;48:342–349.
- [2] Tonks AM, Gornall AS, Larkins SA, et al. Trisomies 18 and 13: trends in prevalence and prenatal diagnosis – population based study. *Prenat Diagn*. 2013;33:742–750.
- [3] Čulić V, Polić B, Mišković S, et al. Patau syndrome. *Paediatr Croat*. 2016;60:27–30.
- [4] Spencer K, Ong C, Skentou H, et al. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn*. 2000;20:411–416.
- [5] Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. Detection of trisomy 18 and trisomy 13 using first and second trimester Down's syndrome screening markers. *J Med Screen*. 2013;20:57–65.
- [6] Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31:7–15.
- [7] Ashoor G, Syngelaki A, Wang E, et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41:21–25.
- [8] Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:249–266.
- [9] Everett TR, Chitty LS. Cell-free fetal DNA: the new tool in fetal medicine. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:499–507.
- [10] Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45:530–538.
- [11] Benacerraf B. *Ultrasound of Foetal Syndromes*. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2008. p. 483–496.
- [12] Sepulveda W, Wong AE. First trimester screening for holoprosencephaly with choroid plexus morphology butterfly. *Prenat Diagn*. 2013;33:1233–1237.
- [13] Rembouskos G, Cicero S, Longo D, et al. Single umbilical artery at 11–14 weeks' gestation: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;22:567–570.
- [14] Fatima AFA, Syngelaki A, Smolin A, et al. Posterior brain in fetuses with trisomy 18, trisomy 13 and triploidy at 11 to 13 weeks' gestation. *Prenat Diagn*. 2012;32:854–858.
- [15] Szigeti Z, Csapó Z, Joó JG, et al. Correlation of prenatal ultrasound diagnosis and pathologic findings in fetuses with trisomy 13. *Prenat Diagn*. 2006;26:1262–1266.
- [16] Wiechec M, Knafel A, Nocun A, et al. Screening for trisomy 18 using traditional combined screening vs. ultrasound-based protocol in tertiary center environment. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30:1765–1770.
- [17] Kagan KO, Wright D, Valencia C, et al. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod*. 2008;23:1968–1975.
- [18] Abele H, Wagner P, Sonek J, et al. First trimester ultrasound screening for Down syndrome based on maternal age, fetal nuchal translucency and different combinations of the additional markers nasal bone, tricuspid and ductus venosus flow. *Prenat Diagn*. 2015;35:1182–1186.
- [19] Wiechec M, Nocun A, Knafel A, et al. Combined screening test for trisomy 21 - is it as efficient as we believe? *J Perinat Med*. 2017;45:185–191.
- [20] Cicero S, Longo D, Rembouskos G, et al. Absent nasal bone at 11–14 weeks of gestation and chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;22:31–35.
- [21] Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, et al. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at the 11 to 13+6-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;26:22–27.
- [22] Maiz N, Valencia C, Kagan KO, et al. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11–13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;33:512–517.
- [23] Liao AW, Snijders R, Geerts L, et al. Fetal heart rate in chromosomally abnormal fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;16:610–613.
- [24] Létard P, Guimiot F, Dupont C, et al. Duplicated distal phalanx of thumb or hallux in trisomy 13: A recurrent feature in a series of 42 fetuses. *Am J Med Genet*. 2018;176:2325–2330.
- [25] Springett A, Wellesley D, Greenlees R, et al. Congenital anomalies associated with trisomy 18 or trisomy 13: A registry-based study in 16 European countries, 2000–2011. *Am J Med Genet*. 2015;167A:3062–3069.

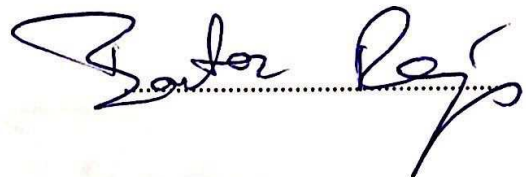
Kraków, 3.11.2020

Lek. Bartosz Rajs

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Oct 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 65% i polegał na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- wykonywaniu określonych pomiarów
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy



DR N. MED. AGNIESZKA NOCUN

(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

dr n. med. Agnieszka Nocun
Lekarz Specjalista
Ginekolog - Położnik
2130788

Agnieszka Nocun

(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia... Maido...

dn. 15.10.2020

LEK. MED. ANNA MATYSZKIEWICZ

(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

Anna Matyszkiewicz
lekarz

2582233

Anna Matyszkiewicz

(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia... Opole... 15.11.2020

lek. Marcin Bartosch
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

..... Marcin Bartosch
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia 16.10.2020 Knebis

Michał Kotodziejski
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-
Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

Michał Kotodziejski
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia. 16/10/2020

dr. n. med. Ewa Uściłko
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

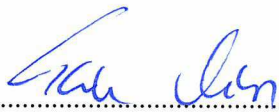
Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na**:

- przeprowadzeniu obliczeń statystycznych

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy


(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Kraków, 16/10/2020

dr hab. n. med. Marcin Wiecheć
Katedra Ginekologii i Położnictwa
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „First-trimester presentation of ultrasound findings in trisomy 13 and validation of multiparameter ultrasound-based risk calculation models to detect trisomy 13 in the late first trimester”. J Perinat Med. 2020 vol:49, iss:3 Sep 19;1-11. doi.org/10.1515/jpm-2020-0383. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 10% i polegał na**:

- opracowywaniu pomysłu badań,
- wykonywaniu eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe),
- krytycznym zrecenzowaniu, a następnie zatwierdzeniu artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy



(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

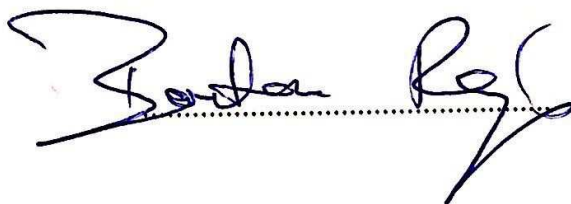
**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Lek. Bartosz Rajs

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 60 % i polegał na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- wykonywaniu określonych pomiarów
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Bartosz Rajs', written over a horizontal dotted line.

Miejscowość/ dnia... Opole 15.10.2020

lek. Marcin Pańkowiak
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

.....
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

MWU DOBREUSG

Marcin Wiecheć, Agnieszka Nocuń
Lekarze Spółka partnerska
31-209 Kraków, ul. Fieldorfa-Nila 14/JU3
NIP 9452210261, REGON 367668860

Miejscowość/ dnia Wrocław.....

dn. 15.10.2020 r.

UEU, MED. ANNA MATYSZKIEWICZ

(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

Anna Matyszkiewicz
lekarz

2582233

Anna Rajsa

(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

MWU Dobreusg
Marcin Wiecheć Agnieszka
Nocun Leona Spółka Partnerska

Kraśnik

Miejscowość/ dnia 15.10.2020

dr n. med. Agnieszka Nocun

(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

CENTRUM DIAGNOSTYKI ULTRASONOGRAFICZNEJ
MWU DOBREUSG MARCIN WIECHEĆ AGNIESZKA NOCUN
LEKARZE SPÓŁKA PARTNERSKA
31-209 Kraków, ul. Gen. Fieldorfa-Nila 14/JU 3
tel. 667 671 671, 607 472 472
REGON: 136766886000016; NIP: 945 221 02 61
PRACOWNIA USG
NR KSIĘGI REJESTROWEJ: 000000193846-01-003
NR REJESTROWY BDO: 000084944

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

dr n. med. Agnieszka Nocun
Lekarz Specjalista
Ginekolog - Położnik
2130788

Agnieszka Nocun

(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia Tonin 16.10.2020

dr h. med. Michał Mięka
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

W 82 w Tonin
Odd. Kliniczny Perinatologii, Chorób Krewnych
i Ginekologii Onkologicznej

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

Michał Mięka
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

DR N. MED. WIOLETTA
ROZMUS - WARCHOLIŃSKA
SPECJALISTA PERINATOLOG
GINEKOLOG - POŁOŻNIK
1963497

Klinika Św. Tuliare
w Ciepłochowie

Katowice
Miejscowość/ dnia 01.10.2020

.....
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy

DR N. MED. WIOLETTA
ROZMUS - WARCHOLIŃSKA
SPECJALISTA PERINATOLOG
GINEKOLOG - POŁOŻNIK
1963497

Wioletta Rozmus Warcholińska

.....
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Miejscowość/ dnia, 15.10.2020.

Lek. Sebastian Zalewski, CM Semedica

.....
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy



.....
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Opole, dnia 18.10.2020

.Dr n.med. Damian Ziętek

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5 % i polegał na**:

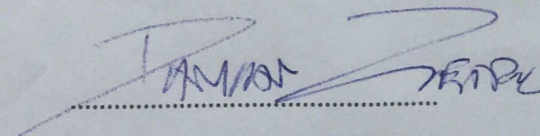
- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)

-

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy



(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.

Place/ date... New York... October 16, 2020

Judene Mavrikis, M.D.
(title, name and surname, affiliation)

Co-autorship statement

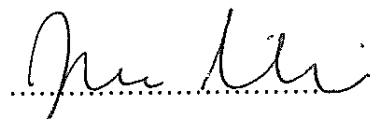
As a co-author of the publication*: Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol. J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. I declare that my own substantial contribution to this publication is 3 % and consists of**:

- preparation of manuscript and language help.

Hereby, I agree to submit the above-mentioned publication by MD Bartosz Rajs as part of a doctoral dissertation in the form of a thematically coherent collection of articles published in scientific journals.

I declare that an independent and identifiable part of the abovementioned publication shows individual contribution of MD Bartosz Rajs consisting of**:

- creation of research hypothesis,
- development a research concept,
- interpretation of results,
- preparation of manuscript


(co-author's signature)

* provide title, journal, volume, year, pages

**e.g. development a research idea, creation of research hypothesis, development a research concept, making specific experiments and/or measurements (it's best to indicate which ones), interpretation of results, preparation of manuscript

Kraków, 16/10/2020

dr hab. n. med. Marcin Wiecheć
Katedra Ginekologii i Położnictwa
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

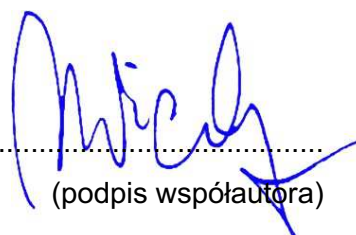
Jako współautor pracy*: „Clinical article: screening for trisomy 13 using traditional combined screening versus an ultrasound-based protocol”, J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Jul 7;1-7. doi: 10.1080/14767058.2019.1623779. Online ahead of print. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 10 % i polegał na**:

- wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe)
- wykonywaniu eksperymentów i/lub pomiarów (badania skriningowe),
- krytycznym zrecenzowaniu, a następnie zatwierdzeniu artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Bartosza Rajsa jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Bartosza Rajsa polegający na:

- stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badań
- opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy
- przygotowaniu manuskryptu pracy


.....
(podpis współautora)

*należy podać tytuł, nazwę czasopisma, wolumen, rok, strony

**np. opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, wykonywaniu określonych eksperymentów i/lub pomiarów (najlepiej wskazać których), opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, przygotowaniu manuskryptu pracy.